








К.Л. Крышень    
Н.М. Фаустова   
М.Н. Макарова   
В.Г. Макаров 

## Эндокринные нарушения при применении лекарственных средств: подходы к доклинической оценке безопасности

Акционерное общество «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»,  
Заводская ул., д. 3, к. 245, г.п. Кузьмоловский, Всеволожский р-н,  
Ленинградская обл., 188663, Российская Федерация


✉ Крышень Кирилл Леонидович; [kryshen.kl@doclinika.ru](mailto:kryshen.kl@doclinika.ru)

### РЕЗЮМЕ

Эндокринная система координирует работу практически всех органов и систем организма позвоночных, в том числе такие важные биологические функции, как метаболизм, развитие, размножение и поведение. На сегодняшний день накоплено значительное количество информации об эндокринных нарушениях при использовании химических соединений (эндокринных дизрапторов) в различных отраслях деятельности человека. **Цель работы** – оценка возможности проведения на стадии доклинических исследований анализа рисков функционального нарушения эндокринной системы при применении новых лекарственных средств. С эндокринными дизрапторами связан широкий спектр нежелательных явлений, включая проблемы развития, возникающие из-за нарушения функционирования эндокринной системы. Особенности эндокринных нарушений, вызванных дизрапторами, являются длительной латентный период между воздействием и проявлением дисфункции, отсутствие линейной зависимости «доза–эффект», зависимость степени нарушений от момента начала и длительности воздействия. К основным механизмам влияния химических веществ на эндокринную систему относят их взаимодействие с рецепторами клеток, чувствительных к влиянию определенных гормонов, влияние на экспрессию генов и внутриклеточную передачу сигналов, транспорт гормонов и др. В обзоре обсуждена возможность использования показателей уровней гормонов как индикаторов эндокринной токсичности и приведены литературные и собственные данные о нормах содержания основных гормонов в крови животных. Включение анализа уровней основных гормонов крови животных в программу регистрационных доклинических исследований позволит оценить риски потенциальных угроз ятрогенного происхождения.

**Ключевые слова:** эндокринная система; нарушения; эндокринные дизрапторы; доклинические исследования; лекарственные средства

**Для цитирования:** Крышень К.Л., Фаустова Н.М., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Эндокринные нарушения при применении лекарственных средств: подходы к доклинической оценке безопасности. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств.* 2023;13(1):27–41. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-401>

K.L. Kryshen    
N.M. Faustova   
M.N. Makarova   
V.G. Makarov 

## Endocrine Disorders Associated with Medicinal Products: Approaches to Preclinical Safety Assessment

Joint Stock Company "Scientific and Production Association HOME OF PHARMACY",  
3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky urban-type settlement,  
Vsevolzhsky district, Leningrad region 188663, Russian Federation

✉ Kirill L. Kryshen; [kryshen.kl@doclinika.ru](mailto:kryshen.kl@doclinika.ru)

### ABSTRACT

The endocrine system coordinates almost all organs and other systems in vertebrates. In particular, it regulates such important biological functions as metabolism, development, reproduction, and behaviour. To date, a significant amount of information has accumulated on endocrine disorders associated with chemical compounds (endocrine disruptors) used in various fields of human activity. **The aim of this study** was to evaluate the possibility of preclinical risk assessment for the endocrine function disorders attributable to new medicinal products. Endocrine disruptors are associated with a wide range of adverse events, including developmental problems arising from functional abnormalities of the endocrine system. Endocrine disorders caused by endocrine-disrupting chemicals are characterised by a long latency period between exposure and manifestation of a dysfunction; a nonlinear dose-response relationship; and a linear correlation of damage severity to exposure timing and duration. The chemicals influence the endocrine system through multiple mechanisms, the main of which being the interaction with cellular receptors sensitive to certain hormones and the influence on gene expression, intracellular signalling, and hormone transport, etc. This paper discusses the possibility of using hormone levels as indicators of endocrine disruption and presents the literature and authors' own data on normal levels of relevant hormones in the blood of animals. An analysis of animal blood hormone levels in preclinical programmes will provide an opportunity to evaluate potential iatrogenic risks.

**Key words:** endocrine system; disorders; endocrine disruptors; preclinical studies; pharmaceuticals

**For citation:** Kryshen K.L., Faustova N.M., Makarova M.N., Makarov V.G. Endocrine disorders associated with medicinal products: approaches to preclinical safety assessment. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023;13(1):27–41. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-401>

### Введение

Эндокринная система управляет физиологическими функциями организма с момента зачатия. Гормональный баланс может быть нарушен воздействием различных химических веществ, в том числе лекарственных средств, что подтверждено многочисленными примерами [1–8].

В 1962 г. Р. Карсон одной из первых привлекла внимание мировой общественности к проблеме чрезмерного антропогенного загрязнения дикой природы химическими веществами, опубликовав монографию «Безмолвная весна» [3]. Заглавие книги отражает наблюдавшуюся в США, Южной Европе, Азии и Африке массовую гибель насекомоядных и хищных птиц после начала широкого применения в сельском хозяйстве

пестицида дихлордифенилтрихлорэтана (ДДТ). Установлено, что ДДТ, накапливаясь в организме птиц, оказывает негативное влияние на их репродуктивную способность и минерализацию скорлупы яиц путем снижения уровня циркулирующего полового гормона эстрадиола и простагландинов [3, 4]. В организм человека ДДТ может поступать с продуктами питания и водой. Было обнаружено, что девочки, подвергавшиеся воздействию ДДТ в высоких концентрациях внутриутробно в 1960-х годах, имели повышенный риск развития рака груди в последующие 50 лет [5].

В качестве другого примера можно привести диэтилстильбэстрол (ДЭС) – синтетический аналог эстрогенов, превосходящий эстрадиол

по биологической активности в несколько раз, применявшийся в рамках гормональной терапии во время беременности для предотвращения выкидышей, а также при недостаточности гормональной функции яичников и для лечения рака молочной железы. В 1971 г. Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) было запрещено его использование из-за подтвержденных случаев возникновения рака влагалища у девочек, рожденных от матерей, принимавших ДЭС. Позже было показано, что внутриутробное воздействие ДЭС связано также и с другими расстройствами репродуктивной системы, бесплодием, высокими показателями самопроизвольных аборт. У мальчиков наблюдался повышенный риск развития генитальных аномалий, рака простаты и яичек [6]. Большинство побочных эффектов ДЭС вскоре были продемонстрированы на моделях с использованием животных [6–8], что прямо подтверждает необходимость проведения детальных доклинических исследований безопасности лекарственных средств.

На международной конференции в 1991 г. (Wingspread conference) было признано существование глобальной проблемы эндокринных нарушений, вызванных антропогенными химическими соединениями как у диких животных, так и у человека<sup>1</sup>. В связи с очевидными фактами развития эндокринных нарушений, ассоциированных с применением химических веществ различных классов, Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) определила данное направление в числе приоритетных областей исследований<sup>2</sup>.

Нарушение функций эндокринной системы беспозвоночных, рыб, теплокровных животных, а также человека может быть вызвано разнообразными химическими веществами, включая синтетические химические вещества (например, полихлорированные и полибромированные бифенилы, диоксины), пластификаторы (например, фталаты, бисфенол А), пестициды (например, атразин, хлорпирифос, ДДТ и др.), фунгициды (например, винклозолин, оловоорганические соединения) и фармацевтические субстанции [9]. Для химических веществ, оказывающих негативное воздействие на эндокринную систему, в зарубежной англоязычной литературе

используется термин «endocrine disruptor», что дословно переводится как «эндокринный разрушитель». ВОЗ и Международной программой по химической безопасности (International Programme on Chemical Safety, IPCS) в 2002 г. предложено следующее определение эндокринных дизрапторов: «эндокринный дизраптор — это экзогенное вещество или смесь веществ, которые изменяют функцию эндокринной системы и применение которых имеет неблагоприятные последствия для здоровья организма, его потомков или (суб)популяции»<sup>3</sup>.

В отечественной литературе данную проблему одними из первых осветили Н.В. Яглова и В.В. Яглов в работе [10], где было предложено следующее определение: «Эндокринные дизрапторы — экзогенные вещества; содержатся в почве, воде, воздухе, пищевых продуктах и некоторых промышленных изделиях, которые, поступая в организм, оказывают гормоноподобные эффекты: нарушают гомеостатические механизмы регуляции эндогенными гормонами процессов жизнедеятельности живых организмов».

В национальном регуляторном поле к настоящему моменту нет описания и не разработана терминология химических веществ, негативно влияющих на эндокринную систему, отсутствуют система и подходы к тестированию химических соединений и лекарственных средств, потенциально способных вызвать эндокринные нарушения.

Цель работы — оценка возможности проведения на стадии доклинических исследований анализа рисков функционального нарушения эндокринной системы при применении новых лекарственных средств.

### **Концепции эндокринных нарушений: время, доза и нелинейные эффекты**

Развитие нового направления в токсикологии сопровождалось выделением трех ключевых принципов (концепций) эндокринных нарушений [11]. Первая концепция, получившая название «эмбриональная основа болезней взрослого», основана на следующем наблюдении: латентный период между воздействием на плод и проявлениями физической или поведенческой дисфункции может быть очень долгим, вплоть до десятилетий. Воздействие факторов окружающей среды, в том числе токсичных веществ,

<sup>1</sup> Commission Regulation (EU) 2018/605 of 19 April 2018 amending Annex II to Regulation (EC) No 1107/2009 by setting out scientific criteria for the determination of endocrine disrupting properties. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2018/605/oj>

<sup>2</sup> World Health Organisation. Parma declaration on environment and health. Fifth Ministerial Conference on Environment and Health. Protecting children's health in a changing environment. Parma; 2010.

<sup>3</sup> The World Health Report: 2002. Reducing risks, promoting healthy life. WHO; 2002.

на этапе внутриутробного развития может вызывать заболевания, которые появляются спустя годы, например онкологические заболевания, бесплодие, преждевременное половое созревание, сахарный диабет и ожирение [11–13].

Вторая концепция заключается в отсутствии линейной зависимости между дозой ЭД, попавших в организм, и реакцией организма. Эта концепция противоположна фундаментальному токсикологическому принципу *sola dosis facit venenum* («доза создает яд»). Стандартный подход в токсикологии заключается в том, что неблагоприятные эффекты возрастают пропорционально уровню воздействия, и существует некий порог, ниже которого не наблюдается никакого эффекта (уровень отсутствия наблюдаемого неблагоприятного эффекта, No Observed Adverse Effect Level, NOAEL). Однако появляется все больше свидетельств того, что эффекты, вызываемые ЭД, не могут быть адекватно спрогнозированы с помощью классической модели, поскольку зависимость «доза–эффект» имеет не линейную форму, а приближается к U-образной или перевернутой U-образной кривой [11, 14–16]. Вероятно, такая зависимость объясняется тем, что возможна интеграция двух различных механизмов действия, каждый из которых реализуется в различном диапазоне доз. Так, например, ДДТ и подобные ему соединения в низких дозах потенциально могут влиять на секрецию эстрогена (или андрогена), а при воздействии доз, близких к полулетальной (LD50), могут действовать как мощный нейротоксин [17].

Третья концепция нарушения эндокринной системы заключается в том, что решающее значение имеют продолжительность и момент воздействия токсиканта, поскольку существуют критические периоды развития организма (например, органогенеза, полового созревания и др.), когда повышается чувствительность к гормонам и, соответственно, к ЭД. Так, например, наличие и степень нарушений при применении ДЭС существенно различались в зависимости от момента его первого применения матерью, полученной дозы и продолжительности лечения [11, 18].

### Основные механизмы действия эндокринных дизрапторов

На стадии разработки и доклинических исследований новых лекарственных средств необходимо понимание механизмов эндокринных нарушений, связанных с воздействием химических соединений на организм. В работе [1]

описаны основные механизмы нарушения эндокринной системы при воздействии химических соединений (табл. 1).

Большинство публикаций на тему ЭД касаются веществ, используемых в химической промышленности, пестицидов и фармацевтических субстанций гормоноподобной структуры. В меньшей степени в литературе освещены проблемы нарушений регуляции эндокринной системы, связанные с применением лекарственных препаратов негормональной природы. S. Sabig и соавт. в 2018 г. представили читателям сводный материал по негормональным лекарственным препаратам, влияющим на эндокринную систему (табл. 2) [19]. К числу основных негормональных ЭД относят антипсихотические, противозепептические, гипотензивные, противовирусные, противодиабетические и противоопухолевые препараты, которые могут влиять на продукцию гормонов, способствовать повышению риска развития сахарного диабета, вызывать изменение функционирования репродуктивной системы.

### Регуляторные аспекты оценки безопасности эндокринных дизрапторов

В Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) в 1996 г. была создана консультативная группа по разработке руководства тестирования и оценки ЭД. Первым документом, регламентирующим выявление химических веществ, влияющих на эндокринную систему, стало Руководство по оценке химических реагентов по воздействию на эндокринную систему (2012 г.), которое предназначалось для интерпретации результатов отдельных тестов и сбора доказательств того, может ли вещество быть ЭД<sup>4</sup>. В 2018 г. ОЭСР опубликовало обновленное руководство по оценке эндокринной токсичности, в котором подробно представлена концепция и программа тестирования, а также подходы к анализу данных<sup>5</sup>.

В руководстве ОЭСР предложена поэтапная система оценки ЭД.

Этап 1. Анализ информации о веществе (физико-химические свойства, молекулярная масса, летучесть и др., токсикологические данные, прогнозы *in silico*, данные метаболизма).

Этап 2. *In vitro* исследование механизмов эндокринных нарушений под действием химического вещества (взаимодействие с рецепторами стероидных гормонов, влияние на ароматазу, ингибирование тиреопероксидазы и др.,

<sup>4</sup> Guidance document on standardised test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption. Paris: OECD; 2012.

<sup>5</sup> Revised guidance document 150 on standardised test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption. Paris: OECD; 2018.

**Таблица 1.** Механизмы действия эндокринных дизрапторов (по М.А. La Merrill и соавт. [1], с изменениями)**Table 1.** Mechanisms of action of endocrine disruptors (adapted from M.A. La Merrill et al. [1])

Механизм действия <i>Mechanism of action</i>	Пример <i>Example</i>
Взаимодействие с гормональным рецептором по принципу лиганда или агониста <i>Interaction with hormone receptors (binding or agonism)</i>	Дихлордифенилтрихлорэтан (ДДТ) связывается с эстрогеновыми рецепторами (ER) типов $\alpha$ и $\beta$ и стимулирует ER-зависимую активацию транскрипции и пролиферацию <i>Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) binds to oestrogen receptors alpha (ER<math>\alpha</math>) and beta (ER<math>\beta</math>) and stimulates ER-dependent transcriptional activation and proliferation</i>
Антагонизм к гормональному рецептору <i>Antagonism of hormone receptors</i>	Дихлордифенилдихлорэтилен (ДДЭ) ингибирует связывание андрогенов с рецептором в клетках предстательной железы <i>Dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) inhibits androgens binding to the androgen receptor in prostate cells</i>
Влияние на экспрессию гормонального рецептора (в том числе распределение в тканях) <i>Influence on hormone receptor expression (and tissue distribution)</i>	Бисфенол А изменяет экспрессию рецепторов эстрогена, окситоцина и вазопрессина и уменьшает опосредованную протеасомой деградацию рецептора ER $\beta$ <i>Bisphenol A alters the expression of oestrogen, oxytocin and vasopressin receptors and reduces proteasome-mediated degradation of ER<math>\beta</math></i>
Влияние на внутриклеточный сигналинг <i>Alteration of intracellular signalling</i>	Бисфенол А индуцирует пролиферацию клеток Сертоли посредством фосфорилирования митоген-активируемой протеинкиназы, регулируемой внеклеточным сигналом (MAP-киназы ERK) <i>Bisphenol A induces Sertoli cell proliferation through phosphorylation of extracellular signal-regulated mitogen-activated kinase (ERK/MAPK)</i>
Эпигенетические механизмы в гормон-продуцирующих клетках или клетках-мишенях (например, модификация хроматина, метилирование ДНК или экспрессия некодирующей РНК) <i>Epigenetic mechanisms in hormone-producing or target cells (for example, chromatin modification, DNA methylation or non-coding RNA expression)</i>	Метоксихлор увеличивает экспрессию ДНК-метилтрансферазы DNMT3B, что приводит к гиперметилированию ДНК, в том числе генов эстрогеновых рецепторов <i>Methoxychlor increases the expression of DNA methyltransferase 3<math>\beta</math> (DNMT3<math>\beta</math>), which leads to hypermethylation of DNA, including oestrogen receptor genes</i>
Влияние на синтез гормонов (например, изменение экспрессии или активности ферментов, необходимых для синтеза гормона) <i>Effects on hormone synthesis (for example, changes in the expression or activity of enzymes necessary for hormone synthesis)</i>	Перхлорат-ион препятствует синтезу гормонов щитовидной железы, ингибируя поглощение йодида через натрий-йодный симпортер тироцитов <i>Perchlorate-ion directly interferes with thyroid hormone synthesis by inhibiting iodide uptake through the human sodium-iodide symporter on thyrocytes</i>
Влияние на транспорт гормонов через клеточные мембраны (например, нарушение внутриклеточного транспорта или секреции гормона) <i>Alteration of hormone transport across cell membranes (for example, impairment of intracellular transport or hormone secretion)</i>	Низкие дозы бисфенола А снижают высвобождение инсулина из везикул $\beta$ -клеток островков Лангерганса <i>Low doses of Bisphenol A reduce insulin secretion from the vesicles of pancreatic islet <math>\beta</math>-cells</i>
Влияние на уровень циркулирующих гормонов (например, на уровень белков-переносчиков или связывание с белками плазмы) <i>Influence on the levels of circulating hormones (e.g., through carrier protein levels or plasma protein binding)</i>	Диэтилстильбэстрол (ДЭС) увеличивает уровень глобулина, связывающего половые гормоны, и тем самым уменьшает уровень половых гормонов (лютеинизирующий, фолликулостимулирующий, тиреотропный гормоны и др.) <i>Diethylstilbestrol (DES) increases circulating levels of sex hormone-binding globulin, thus decreasing the levels of sex hormones (luteinising hormone, thyroid-stimulating hormone, follicle-stimulating hormone, etc.)</i>
Влияние на метаболизм и клиренс гормонов <i>Effects on hormone metabolism and clearance</i>	Внутриутробное воздействие ДЭС является причиной сдвига в метаболизме эстрогенов у женщин <i>Prenatal exposure to DES causes a shift in oestrogen metabolism in women</i>
Влияние на структуру и организацию тканей (например, изменение клеточной пролиферации, миграции, влияние на дифференцировку клеток, индукция апоптоза) <i>Effects on tissue structure and organisation (for example, changes to cell proliferation and migration, influence on cell differentiation, induction of apoptosis)</i>	У самок мышей, подвергшихся воздействию оксибензона во время беременности и лактации, наблюдали увеличение пролиферации эпителиальных клеток молочной железы <i>Female mice exposed to oxybenzone during pregnancy and lactation demonstrated an increase in mammary epithelial cell proliferation</i>

**Таблица 2.** Примеры лекарственных препаратов, влияющих на эндокринную систему (по S. Sabir и соавт. [19], с изменениями)**Table 2.** Examples of medicinal products affecting the endocrine system (adapted from S. Sabir et al. [19])

Международное непатентованное название <i>International non-proprietary name</i>	Фармакотерапевтическая группа <i>Pharmacotherapeutic group</i>	Известные негативные эффекты <i>Known negative effects</i>
Функции щитовидной железы / <i>Thyroid function</i>		
Амиодарон <i>Amiodarone</i>	Антиаритмическое средство <i>Anti-arrhythmic agents</i>	Гипотиреоз, являющийся следствием ингибирования поглощения йода фолликулярными клетками <i>Hypothyroidism through inhibiting of iodine uptake by follicular cells</i>
Интерлейкин-2 <i>Interleukin-2</i>	Цитокин <i>Cytokines</i>	Гипотиреоз, являющийся следствием повышенного уровня антитироглобулина и антитиреоидных микросомальных антител <i>Hypothyroidism due to elevated levels of antithyroglobulin and antithyroid microsomal antibodies</i>
Сунитиниб <i>Sunitinib</i>	Противоопухолевое средство – ингибитор протеинтирозинкиназы <i>Antineoplastic agents, protein tyrosine kinase inhibitors</i>	Тиреоидит, являющийся следствием апоптоза фолликулярных клеток <i>Thyroiditis through follicular cell apoptosis</i>
Алемтузумаб <i>Alemtuzumab</i>	Селективный иммунодепрессант <i>Selective immunosuppressants</i>	Гипертиреоз, являющийся следствием активации аутоиммунных механизмов <i>Hyperthyroidism due to autoimmune mechanisms activation</i>
Половая функция / <i>Sexual function</i>		
Вальпроевая кислота <i>Valproic acid</i>	Противоэпилептическое средство <i>Anti-epileptics</i>	Прямое токсическое действие на ткани яичек, приводит к эректильной дисфункции, нарушению морфологии сперматозоидов, их подвижности <i>Direct toxic effect on testicular tissues, leading to erectile dysfunction, abnormal sperm morphology and reduced motility</i>
Карбамазепин <i>Carbamazepine</i>	Противоэпилептическое средство <i>Anti-epileptics</i>	Увеличение синтеза глобулина, связывающего основные гормоны и снижение уровня половых гормонов <i>Increase in sex hormone-binding globulin synthesis and decrease in sex hormone levels</i>
Тамоксифен <i>Tamoxifen</i>	Противоопухолевое средство – антиэстроген <i>Antineoplastic agents, anti-oestrogens</i>	Снижает синтез и высвобождение лютеинизирующего гормона, блокирует рецептор эстрогена, особенно в гипоталамусе, что приводит к остановке овуляции <i>Decreases synthesis and release of luteinising hormone, blocks oestrogen receptors, especially in the hypothalamus, which inhibits ovulation</i>
Углеводно-липидный обмен / <i>Lipid and carbohydrate metabolism</i>		
Ставудин, зидовудин <i>Stavudin, Zidovudine</i>	Противовирусное [ВИЧ] средство <i>Antivirals for treatment of HIV infection</i>	Усиление процессов липолиза, что, в свою очередь, приводит к увеличению свободных жирных кислот в плазме и резистентности к инсулину <i>Enhances lipolysis processes responsible for increased plasma free fatty acids, leading to insulin resistance</i>
Ритонавир <i>Ritonavir</i>	Противовирусное [ВИЧ] средство <i>Antivirals for treatment of HIV infection</i>	Разрушение β-клеток поджелудочной железы в результате образования аутоантител <i>Destruction of pancreatic β-cells as a result of autoantibodies formation</i>
Интерферон альфа <i>Interferon alpha</i>	Цитокин <i>Cytokines</i>	Повышенный уровень глюкозы в крови натощак, являющийся следствием гипокалиемии, что приводит к снижению секреции инсулина <i>Increased fasting blood glucose due to hypokalaemia, resulting in decreased insulin secretion</i>
Хлорталидон <i>Chlorthalidone</i>	Диуретическое средство <i>Diuretics</i>	Повышенная резистентность к инсулину и снижение экспрессии GLUT4 в адипоцитах <i>Increased insulin resistance and decreased glucose transporter-4 (GLUT-4) expression in adipocytes</i>
Симвастатин, аторвастатин <i>Simvastatin, atorvastatin</i>	Гиполипидемическое средство – ингибитор ГМГ-КоА-редуктазы <i>Hypolipidemic agents, HMG-CoA reductase inhibitors</i>	Ожирение, снижение действия инсулина <i>Obesity, decreased insulin action</i>
Клозапин <i>Clozapine</i>	Антипсихотическое средство (нейролептик) <i>Antipsychotic agents (neuroleptics)</i>	Ожирение, задержка жидкости <i>Obesity, fluid retention</i>
Пиоглитазон <i>Pioglitazone</i>	Гипогликемическое средство для перорального применения <i>Oral antihyperglycemic agents</i>	

взаимодействие с ретиноидными рецепторами и др.).

Этап 3. Подтверждение механизмов *in vivo* (например, краткосрочные тесты на грызунах, позволяющие определить наличие эстрогеноподобных или андрогеноподобных свойств у тестируемого соединения)<sup>6</sup>.

Этап 4. Данные общетоксикологических исследований (токсичность при многократном введении в течение 28, 90 сут, канцерогенность, репродуктивная токсичность на одном поколении и др.).

Этап 5. Углубленные данные токсикологических исследований (расширенное исследование репродуктивной токсичности на одном поколении, репродуктивная токсичность для двух поколений)<sup>7</sup>.

Предложенная система не является обязательной стратегией тестирования. Цель такой системы тестирования фактически состоит в получении максимально возможной информации для корректной оценки эндокринных нарушений при попадании в организм химического вещества, используемого в различных областях экономической деятельности человека.

Исследования токсичности на животных, проводимые в соответствии со стандартными протоколами ОЭСР, предполагают биохимический, гематологический анализ крови, взвешивание органов, а также детальный гистопатологический анализ тканей, в том числе эндокринных желез. В ряде обновленных документов, например в протоколе ОЭСР «90-дневная токсичность на грызунах»<sup>8</sup>, кроме анализа стандартных клинико-лабораторных показателей обязательной является оценка уровней гормонов щитовидной железы трийодтиронина (Т3), тироксина (Т4) и тиреотропного гормона (ТТГ) в сыворотке крови как индикаторов гормональной активности, а в качестве дополнительных параметров предлагается определять уровни половых гормонов (тестостерона, эстрадиола, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ)) и спермограмму<sup>9</sup>.

Методические указания по оценке безопасности применения лекарственных средств (частный

случай химических веществ) в отношении эндокринной системы проработаны в меньшей степени. В 2015 г. FDA опубликовало руководство по доклинической оценке токсичности лекарственных средств в отношении эндокринной системы<sup>10</sup>. В руководстве подчеркивается, что на сегодняшний день не было обнаружено ни одного примера эндокринной токсичности, которую нельзя было бы идентифицировать с помощью стандартного перечня доклинических испытаний. Согласно данному руководству для оценки рисков потенциальной токсичности, связанной с нарушением функций эндокринной системы, рекомендуется следующий объем испытаний:

- предварительный скрининг возможности взаимодействия и связывания лекарственных субстанций с рецепторами, чувствительными к гормонам;
- фармакологические исследования (эндокринная активность тестируемого соединения может быть обнаружена в ходе экспериментов на моделях заболеваний человека, если фармакологическая мишень напрямую или косвенно затрагивает систему эндокринной регуляции);
- исследования токсичности при многократном введении на двух видах животных (грызунах и негрызунах);
- исследование репродуктивной токсичности;
- исследование канцерогенности.

В случае обнаружения негативных эффектов, связанных с нарушением функционирования эндокринной системы, требуются дополнительные исследования, направленные на поиск механизмов выявленного нарушения. Например, одним из механизмов негативного воздействия может являться изменение активности изоферментов семейства цитохрома P450 (CYP), поскольку некоторые из них (CYP 11A1, 11B1, 11B2, 17A1 и 21A1) участвуют в анаболизме и катаболизме стероидных гормонов. Аналогично уридин-5-дифосфат глюкуронилтрансфераза в печени метаболизирует гормоны щитовидной железы<sup>11</sup>.

#### Уровни гормонов в крови животных как индикаторы гормональных нарушений

В стандартных доклинических исследованиях безопасности лекарственных средств влияние

<sup>6</sup> Test No. 440: Uterotrophic bioassay in rodents: a short-term screening test for oestrogenic properties. Paris: OECD; 2007.

Test No. 441: Hershberger bioassay in rats: a short-term screening assay for (anti)androgenic properties. Paris: OECD; 2009.

<sup>7</sup> Test No. 443: Extended one-generation reproductive toxicity study. Paris: OECD; 2018.

Test No. 416: Two-generation reproduction toxicity study. Paris: OECD; 2018.

<sup>8</sup> Test No. 408: Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents. Paris: OECD; 2018.

<sup>9</sup> Там же.

<sup>10</sup> Nonclinical evaluation of endocrine-related drug toxicity. Guidance for industry. CDER; 2015.

<sup>11</sup> Там же.

на эндокринную систему оценивают в первую очередь путем гистологического исследования эндокринных желез. Однако даже отсутствие микроскопических изменений ткани не всегда отражает функциональные нарушения в работе эндокринной системы. В этой связи важным элементом комплексной оценки эндокринных нарушений может служить определение уровня ключевых гормонов в крови животных в исследованиях общей токсичности при многократном введении или при изучении репродуктивной токсичности.

Выделяют три основные вертикальные оси гормональной регуляции, работающие по принципу обратной связи: тиреотропная ось (гипоталамус – гипофиз – щитовидная железа), гонадотропная ось (гипоталамус – гипофиз – гонады), кортикотропная ось (гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников). Все оси по отдельности и во взаимосвязи формируют систему регуляции функций организма. Важным следствием этого взаимодействия является то, что изменения, индуцированные в одной эндокринной оси, вероятно, приведут к изменениям в других.

В доклинических исследованиях используют животных, у которых интактный гормональный фон может отличаться от гормонального фона человека, поэтому важно знать нормальные значения уровней отдельных гормонов для разных видов животных. Ниже представлены литературные данные, а также данные, полученные авторами статьи в рутинных исследованиях АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (табл. 3).

Следует отметить, что оценка только уровня того или иного биохимического маркера с позиции нормы или выхода за пределы нормальных значений не всегда является достаточной. Так, например, в качестве основных маркеров при оценке гормонального статуса щитовидной железы в течение длительного времени использовали уровни ТТГ совместно с Т4 (свободная фракция тироксина). Однако в настоящее время наблюдается тенденция к использованию показателей, изменение которых происходит на ранних сроках биологических нарушений, поэтому дополнительно к определению абсолютных значений уровней гормонов ТТГ, Т4 рекомендуется определение уровня Т3 (свободные фракции трийодтиронина), что позволяет рассчитать интегральный тиреоидный индекс (ИТИ), представляющий собой отношение суммы гормонов щитовидной железы к тиреотропному гормону и для клинически здорового человека в норме составляющий 7,04–27,21 [46]. Изменение этого

индекса является наиболее ранним маркером развития дисфункции щитовидной железы: повышение ИТИ свидетельствует о гипертиреозе, снижение ИТИ – о начальных стадиях гипотиреоза. Другим показателем, отражающим функцию щитовидной железы и действие гормонов на ткани, является отношение Т3/Т4, которое позволяет диагностировать состояния тиреотоксикоза, синдрома эутиреоидной слабости, влияния терапии и действия различных препаратов на функцию щитовидной железы [46–48].

На основании данных литературы и данных, полученных в результате собственных исследований, необходимо отметить, что у животных уровень ТТГ намного ниже, чем у человека, тогда как уровни Т3 и Т4 сравнимы (табл. 3). Поэтому, вероятно, расчет соотношения Т3/Т4 может быть более информативным маркером для контроля эндокринных нарушений в работе щитовидной железы при изучении токсичности или активности лекарственных средств.

Согласно лабораторным исследованиям, у крыс-самцов выше циркулирующие уровни Т4 и ТТГ, чем у самок крыс. Уровни Т3 и Т4 у крыс с возрастом снижаются [23]. Линии крыс различаются по наличию генетических особенностей и заболеваний, однако необходимо отметить, что у крыс довольно часто обнаруживают эутиреоидный синдром и спонтанно возникающие доброкачественные опухоли щитовидной железы без каких-либо клинических признаков [23, 49]. Такие особенности необходимо учитывать при интерпретации результатов, получаемых для этого вида лабораторных животных.

При анализе уровней гормонов гонадотропной оси исследователь может сталкиваться с большой вариабельностью данных, особенно у самок (табл. 3). Диагностическое значение имеет соотношение гормонов ЛГ/ФСГ. Так, у человека в детском возрасте оба гормона вырабатываются в соотношении 1:1. После начала полового созревания концентрация ЛГ становится больше, чем ФСГ. К завершению полового созревания и до начала климактерического периода показатель ФСГ стабильно меньше ЛГ в 1,5–2 раза. Значение ЛГ/ФСГ > 2,5 может свидетельствовать о развитии заболеваний яичников. Показатели ФСГ и ЛГ у мужчин достаточно стабильны, уровень ФСГ всегда немного выше уровня ЛГ [50, 51]. Аналогичные соотношения ЛГ/ФСГ характерны для карликовых свиней.

Ключевым фактором, определяющим степень достоверности и клинической значимости получаемых результатов, будет являться выбор вида



**Таблица 3.** Содержание некоторых гормонов основных вертикальных осей гормональной регуляции у человека и лабораторных животных**Table 3.** Levels of selected hormones of the main vertical endocrine regulation axes in humans and laboratory animals

Гормон <i>Hormone</i>	Человек <sup>12</sup> <i>Humans</i> <sup>12</sup>		Крысы <i>Rats</i>	Кролики <i>Rabbits</i>	Карликовые свиньи <i>Mini pigs</i>
	мужчины <i>males</i>	женщины <i>females</i>			
Тиреотропная ось <i>Thyrotropic axis</i>					
Тиреотропный гормон (ТТГ), мМЕ/л <i>Thyroid-stimulating hormone</i> <i>(TSH), mU/L</i>	0,3–5,0		0,07–0,10 [20]	0,56–0,70 [41]	≤ <b>0,03</b> 0,01–0,38 [22]
Трийодтиронин (Т3) нмоль/л <i>Triiodothyronine (T3), nM/L</i>	1,2–3,1		6,1–7,2 [20] 0,38–1,53 [23]	2,3–2,7 [21] 1,7–2,1 [41]	<b>1,3–2,7</b> 4,1–98,7 [22]
Тироксин (Т4), нмоль/л <i>Thyroxine (T4), nM/L</i>	39–155		<b>44,1–51,5</b> 45,3–61,0 [20] 37,5–87,5 [23]	23,8–51,3 [21]; 52,4–72,0 [41]	Самцы / <i>Males</i> : <b>35–43</b> 43–356 [22] Самки / <i>Females</i> : <b>30–89</b> 17–243 [22]
Гонадотропная ось <i>Gonadotropic axis</i>					
Тестостерон, нмоль/л <i>Testosterone, nM/L</i>	4,5–35,4 <sup>13</sup>	0–3,1	Самцы / <i>Males</i> : <b>0,64–21,20</b> ; 4,0–16,5 [24]; Самки / <i>Females</i> : 0,94–3,47 [25, 26]	Самцы / <i>Males</i> : 0,04–0,45 [27]; 50,6–56,2 [28]; Самки / <i>Females</i> : 0,08–0,14 [29]	Самцы / <i>Males</i> : <b>4,4–27,8</b> ; 5,1–25,2 [30]
Эстрадиол, пг/мл <i>Estradiol, pg/mL</i>	30–68 <sup>14</sup>	28–178 (фол. ф. / <i>FPh</i> ); 51–549 (овул. / <i>OV</i> ); 33,6–251 (лют. ф. / <i>LPh</i> ); 18,4–64,0 (мен. п. / <i>MNP</i> )	Самцы / <i>Males</i> : 37,2–43,4 [34] Самки / <i>Females</i> : <b>47–191</b> ; 40–115 [31]; 71–158 [32; 33]	Самки / <i>Females</i> : 408–564 [28]	Самки / <i>Females</i> : <b>29–85</b> 30–90 [35]
Прогестерон, нмоль/л <i>Progesterone, nM/L</i>	0,5–6,0 <sup>15</sup>	0,5–6,0 (фол. ф., мен. п. / <i>FPh, MNP</i> ) 10–94 (лют. ф. / <i>LPh</i> )	18,7–21,3 [36]	4,6–10,0 [37]	66,8–270,0 [35]; 63,6–175,0 [38]
Фолликулостимулирующий гормон, нг/мл <i>Follicle-stimulating hormone,</i> <i>ng/mL</i>	0,05–0,55 <sup>16</sup>	0,07–0,68 (фол. ф. и лют. ф. / <i>FPh &amp; LPh</i> ) 0,26–1,04 (овул. / <i>OV</i> ) 1,04–6,78 (мен. п. / <i>MNP</i> )	Самцы / <i>Males</i> : 8,6–12,2 Самки / <i>Females</i> : 4,0–7,0 [39]	1,1–5,5 [40]	Самцы / <i>Males</i> : <b>1,1–4,5</b> Самки / <i>Females</i> : <b>1,5–7,2</b> ; 2,0–5,4 [42]
Лютеинизирующий гормон, нг/мл <i>Luteinising hormone, ng/mL</i>	0,13–2,00 <sup>17</sup>	0,13–2,34 (фол. и лют. фазы / <i>FPh</i> & <i>LPh</i> ) 1,75–12,90 (овул. / <i>OV</i> ) 2,61–13,4 (мен. п. / <i>MNP</i> )	Самцы / <i>Males</i> : 0,3–0,5 Самки / <i>Females</i> : 0,1–0,5 [39]	0,55–1,40 [40]	Самцы / <i>Males</i> : <b>0,64–3,10</b> ; Самки / <i>Females</i> : <b>1,2–7,8</b> 2,3–3,5 [42]

<sup>12</sup> Северин СЕ, ред. Биохимия: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.<sup>13</sup> Тестостерон-ИФА-Бест. № X-3972. Инструкция по применению. АО «Вектор-Бест». Новосибирск; 2012.<sup>14</sup> Estradiol ELISA. Ref EAI-2693. Instructions for use. Version 14.0. DRG Instruments GmbH. Marburg; 2016.<sup>15</sup> Прогестерон-ИФА-Бест. № X-3978. Инструкция по применению. АО «Вектор-Бест». Новосибирск; 2015.<sup>16</sup> ФСГ-ИФА-Бест. № X-3974. Инструкция по применению. АО «Вектор-Бест». Новосибирск; 2012.<sup>17</sup> ЛГ-ИФА-Бест. № X-3976. Инструкция по применению. АО «Вектор-Бест». Новосибирск; 2017.

Продолжение таблицы 3

Table 3 (continued)

Гормон <i>Hormone</i>	Человек <i>Humans</i>		Крысы <i>Rats</i>	Кролики <i>Rabbits</i>	Карликовые свиньи <i>Mini Pigs</i>
	мужчины <i>males</i>	женщины <i>females</i>			
Кортикотропная ось <i>Corticotropic axis</i>					
Адренокортикотропный гормон, пг/мл <i>Adrenocorticotrophic hormone, pg/mL</i>	6–76		Самцы / <i>Males</i> : <b>83–162</b> 6,3–12,7 Самки / <i>Females</i> : 12,0–7,0 [43]	95–165 [44]	90–170 [45]
Кортизол, нмоль/л <i>Cortisol, nM/L</i>	138–635 (утро / <i>morning</i> ) 82–441 (вечер / <i>evening</i> )		<b>65–106</b> 26,6–44,0 [46]	22–27 (утро / <i>morning</i> ) до / <i>up to</i> 38 (вечер / <i>evening</i> ) [47]	Самцы / <i>Males</i> : 25–33; Самки / <i>Females</i> : 14,1–18,5 [48]
Кортикостерон, нмоль/л <i>Corticosterone, nM/L</i>	3,8–66,5		Самцы / <i>Males</i> : <b>197–1205</b> 655–855 Самки / <i>Females</i> : <b>258–387</b> ; 1015–1415 [23]	<b>252–284</b> ; 59–73 [44]	Нет данных <i>No data</i>

**Примечание.** Нормы могут иметь некоторые отличия в зависимости от метода анализа и используемого ИФА-набора. Нормы по содержанию гормонов гонадотропной оси в сыворотке крови человека приведены согласно инструкциям к ИФА-наборам.

Собственные данные выделены жирным шрифтом и подчеркнуты. Определение концентрации гормонов выполнено иммуноферментным методом (ИФА) с использованием наборов производства: 1) ООО «Вектор-Бест» (Россия): Тестостерон-ИФА-Бест (№ X-3972), Прогестерон-ИФА-Бест (№ X-3978), ТТГ-Люмо-Бест (№ X-3912), Т3 общий-ИФА-БЕСТ (№ X-3954), Т4 общий-ИФА-БЕСТ (№ X-3956), Кортизол-ИФА-Бест (№ X-3964); 2) «IBL International» (Германия): ELISA kit 'Corticosterone: Human, Rat, Mouse' (№ RES2211); 3) «Cloud-Clone Corp.» (США): ELISA Kit for Luteinising Hormone (LH), Porcine (№ CEA441Po); ELISA Kit for Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Porcine (№ CEA830Po); 4) «DRG Instruments GmbH» (Германия): Oestradiol ELISA (№ EIA-2693); 5) «MyBioSource» (США): Rat ACTH ELISA kit (MBS2502683).

Условные обозначения: фол. ф. – фолликулярная фаза, лют. ф. – лютеиновая фаза, овул. – овуляция, мен. п. – менопауза.

**Note.** Reference values may differ slightly depending on the analysis method and the ELISA kit used. Reference values for gonadotropic axis hormones in human serum correspond to ELISA kits' instructions for use.

Authors' own data are bold and underlined. The hormone concentrations were determined by enzyme immunoassays (EIA) using kits manufactured by 1) Vector-Best (Russia): Testosterone-EIA-Best (No. X-3972), Progesterone-EIA-Best (No. X-3978), TSH-Lumo-Best (No. X-3912), T3 total-EIA-BEST (No. X-3954), T4 total-EIA-BEST (No. X-3956), Cortisol-IFA-Best (No. X-3964); 2) IBL International (Germany): ELISA kit 'Corticosterone: Human, Rat, Mouse' (No. RES2211); 3) Cloud-Clone Corp. (USA): ELISA Kit for Luteinising Hormone (LH), Porcine (No. CEA441Po); ELISA Kit for Follicle-Stimulating Hormone (FSH), Porcine (No. CEA830Po); 4) DRG Instruments GmbH (Germany): Oestradiol ELISA (No. EIA-2693); 5) MyBioSource (USA): Rat ACTH ELISA Kit (MBS2502683).

Abbreviations: FPh – follicular phase, LPh – luteal phase, OV – ovulation, MNP – menopause.

используемых лабораторных животных в соответствии с задачами исследования. Например, оценку динамики изменения уровней половых (эстрадиол, прогестерон) и гонадотропных гормонов (ФСГ, ЛГ) рекомендуется проводить на карликовых свиньях, так как продолжительность эстрального цикла у этих животных (18–24 сут) наиболее близка к менструальному циклу женщин. Кроме того, соотношение фолликулярной и лютеиновой фазы у свиней по продолжительности близко к таковому, наблюдаемому у женщин [52].

Мыши и крысы являются общепринятым видом животных, использующихся для изучения стресса. Основным гормоном стресса у этих животных в отличие от человека является кортикостерон [53, 54]. Уровень этого гормона зависит

от различных факторов: времени суток [53], времени года [55], поведенческой активности животных [54, 56–59] и др. Ритм суточной секреции кортикостерона (аналогично кортизолу у человека) надпочечниками имеет «пульсирующий характер» и характеризуется низким уровнем гормонов в начале биологической ночи (время засыпания), резким подъемом к середине биологической ночи, достижением максимума к моменту пробуждения и постепенным снижением гормонального уровня до момента начала нового суточного цикла [55].

V. Viau и M.J. Meaney [58] было установлено, что в отсутствие стрессовых факторов влияние эстрального цикла на концентрацию кортикостерона в плазме крыс-самок статистически

незначимо. Поведенческая активность животных влияет на концентрацию кортикостерона. У высокоактивных крыс-самцов (прогностически устойчивых в условиях стрессорного напряжения) концентрация кортикостерона в плазме крови составила  $755 \pm 100$  нмоль/л, у пассивных (предрасположенных к стрессу) –  $1215 \pm 225$  нмоль/л [56]. Влияние сезонного фактора на уровень кортикостерона в крови отмечалось в работе А.А. Гостюхиной и соавт. [57]. В осенне-зимний период среднесуточная концентрация кортикостерона в крови крыс минимальна. Осенью она составляет 41–66 нмоль/л, зимой – 69–116 нмоль/л, затем возрастает к весеннему периоду до 537–574 нмоль/л и в течение лета остается в среднем на уровне 115–173 нмоль/л.

При оценке уровня гормонов кортикотропной оси и интерпретации результатов необходимо учитывать все вышеперечисленные факторы, а также наличие/отсутствие стресс-факторов, связанных в том числе с забором крови. Для оценки влияния лекарственных средств на гормоны кортикотропной оси выбор определяемого показателя обусловлен видом лабораторных животных, например у крыс и мышей оценивают концентрацию кортикостерона, у карликовых свиней и кроликов – кортизола.

### Заключение

К настоящему времени накоплено значительное количество данных о негативном влиянии химических веществ, в том числе лекарственных средств, на эндокринную систему. Вопросы прогнозирования влияния экзогенных соединений на эндокринную систему становятся все более актуальными наравне с оценкой канцерогенных или генотоксических свойств. Учитывая разнообразие механизмов, посредством которых

ЭД способны нарушать гормональную регуляцию, а также нелинейность зависимости «доза–эффект», необходима всесторонняя экспериментальная оценка рисков подобных изменений. Международные регуляторные требования и методические подходы к тестированию безопасности химических веществ и лекарственных средств относительно эндокринной системы накладываются на этапе формирования и развития.

Не вызывает сомнения и необходимость разработки национальных практических рекомендаций/руководств. На сегодняшний день в рамках доклинической оценки безопасности лекарственных средств не уделяется должное внимание этим вопросам. Предлагается включить измерение уровней основных гормонов в биологических жидкостях в протоколы оценки общей и специфической токсичности как ранних индикаторов гормональных нарушений, возникающих еще до развития структурных изменений тканей и органов. При планировании таких исследований необходимо учитывать видовые особенности гормональной регуляции. При этом биологическое разнообразие животных моделей позволит увеличить прогностическую ценность получаемых результатов. Очевидным становится важность создания внутрилабораторных норм (референтных интервалов) не только отдельных гормонов, но и их соотношений у разных видов животных, используемых в экспериментах.

Таким образом, включение в традиционные регистрационные доклинические исследования анализа уровней основных гормонов у животных позволило бы оценить риски потенциальных угроз ятрогенного происхождения без значительного увеличения стоимости самих исследований.

### ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. La Merrill MA, Vandenberg LN, Smith MT, Goodson W, Browne P, Patisaul HB, et al. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(1):45–57. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0273-8>
2. Lathers CM. Endocrine disruptors: a new scientific role for clinical pharmacologists? Impact on human health, wildlife, and the environment. *J Clin Pharm.* 2002;42(1):7–23. <https://doi.org/10.1177/0091270002042001001>
3. Carson RL. *Silent spring.* Boston: Houghton Mifflin Co.; 1962.
4. Соловьева ТА. «Безмолвная весна» Рэйчел Карсон и революция в общественном экологическом сознании XX века. В кн.: *Человек, экология, культура: Современные практики и проблемы.* Сборник научных трудов по материалам Международной молодежной научной конференции. Саратов; 2014. С. 206–11. [Solovyeva TA. Rachel Carson's "Silent spring" and a revolution in public environmental awareness in the 20th century. In: *Human, ecology, culture: modern practices and problems.* Proceedings of the International Youth Scientific Conference. Saratov; 2014. P. 206–11 (In Russ.)]
5. Cohn BA, La Merrill M, Krigbaum NY, Yeh G, Park JS, Zimmermann L, Cirillo PM. DDT exposure in utero and breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(8):2865–72. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1841>
6. Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent

- generations. *Endocrinology*. 2006;147(6 Suppl):11–7. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1164>
7. McLachlan JA, Newbold RR, Shah HC, Hogan MD, Dixon RL. Reduced fertility in female mice exposed transplacentally to diethylstilbestrol (DES). *Fertil Steril*. 1982;38(3):364–71. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)46520-9](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)46520-9)
  8. Newbold RR, McLachlan JA. Vaginal adenosis and adenocarcinoma in mice exposed prenatally or neonatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res*. 1982;42(5):2003–11. PMID: 7066910
  9. Galbiati V, Buoso E, d'Emmanuele R, di Villa Bianca R, Di Paola R, Morroni F, et al. Immune and nervous systems interaction in endocrine disruptors toxicity: the case of atrazine. *Front Toxicol*. 2021;3:4. <https://doi.org/10.3389/ftox.2021.649024>
  10. Яглова НВ, Яглов ВВ. Эндокринные дисрапторы – новое направление исследований в эндокринологии. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012;67(3):56–61. [Yaglova NV, Yaglov VV. Endocrine disruptors are a novel direction of endocrinologic scientific investigation. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012;67(3):56–61 (In Russ.)]
  11. Patisaul HB, Adewale HB. Long-term effects of environmental endocrine disruptors on reproductive physiology and behavior. *Front Behav Neurosci*. 2009;3:10. <https://doi.org/10.3389/neuro.08.010.2009>
  12. Евтеева АА, Шеремета МС, Пигарова ЕА. Эндокринные дисрапторы в патогенезе таких социально значимых заболеваний, как сахарный диабет, злокачественные новообразования, сердечно-сосудистые заболевания, патология репродуктивной системы. *Ожирение и метаболизм*. 2021;18(3):327–35. [Evteeva AA, Sheremeta MS, Pigarova EA. Endocrine disruptors in the pathogenesis of socially significant diseases such as diabetes mellitus, malignant neoplasms, cardiovascular diseases, pathology of the reproductive system. *Ozhirenie i metabolism = Obesity and Metabolism*. 2021;18(3):327–35 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14341/omet12757>
  13. Lauretta R, Sansone A, Sansone M, Romanelli F, Appetecchia M. Endocrine disrupting chemicals: effects on endocrine glands. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:178. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00178>
  14. Andersen ME, Conolly RB, Faustman EM, Kavlock RJ, Portier CJ, Sheehan DM, et al. Quantitative mechanistically based dose-response modeling with endocrine-active compounds. *Environ Health Perspect*. 1999;107(Suppl 4):631–8. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107s4631>
  15. Sheehan DM. No-threshold dose–response curves for nongenotoxic chemicals: findings and applications for risk assessment. *Environ Res*. 2006;100(1):93–9. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.09.002>
  16. Vandenberg LN, Wadia PR, Schaeberle CM, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. The mammary gland response to estradiol: monotonic at the cellular level, non-monotonic at the tissue-level of organization? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2006;101(4–5):263–74. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.06.028>
  17. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette LJ Jr, et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect*. 1996;104(Suppl 4):741–803. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104s4741>
  18. Robboy SJ, Szyfelbein WM, Goellner JR, Kaufman RH, Taft PD, Richard RM, et al. Dysplasia and cytologic findings in 4,589 young women enrolled in diethylstilbestrol-adenosis (DESAD) project. *Am J Obstet Gynecol*. 1981;140(5):579–86. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(81\)90236-2](https://doi.org/10.1016/0002-9378(81)90236-2)
  19. Sabir S, Akhtar MF, Saleem A. Endocrine disruption as an adverse effect of non-endocrine targeting pharmaceuticals. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019;26(2):1277–86. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3774-4>
  20. Сандаков ДБ, Семененя ИН, Гурин АВ. Изменение содержания некоторых гормонов в крови у крыс при центральном действии ингибиторов протеолиза и белкового синтеза. *Проблемы эндокринологии*. 1997;43(4):46–7. [Sandakov DB, Semeneya IN, Gurin AV. The change in the content of certain hormones in the blood of rats under the central action of proteolysis inhibitors and protein synthesis. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology*. 1997;43(4):46–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14341/probl199743446-47>
  21. Joseph LJ, Desai KB, Patel MC, Mehta MN, Ganatra RD. Thyroid function and thyrotropin levels in rabbits immunized to produce antibodies against thyroid hormones. *Int J Rad Appl Instrum B*. 1987;14(5):511–4. [https://doi.org/10.1016/0883-2897\(87\)90119-x](https://doi.org/10.1016/0883-2897(87)90119-x)
  22. Yeom SC, Cho SY, Park CG, Lee WJ. Analysis of reference interval and age-related changes in serum biochemistry and hematology in the specific pathogen free miniature pig. *Lab Anim Res*. 2012;28(4):245–53. <https://doi.org/10.5625/lar.2012.28.4.245>
  23. Thorson L. Thyroid diseases in rodent species. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2014;17(1):51–67. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2013.09.002>
  24. Диатроптов МЕ, Диатроптова МА, Кондашевская МВ. Анализ показателей инфрадианных ритмов стероидных гормонов и процентного содержания нейтрофилов периферической крови у крыс-самцов Вистар. *Фундаментальные исследования*. 2012;(9-2):273–7. [Diatroptov ME, Diatrop-tova MA, Kondashevskaya MV. Infradian rhythmic of the steroid hormones and peripheral blood's neutrophils percentage test in Wistar male rats. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*. 2012;(9-2):273–7 (In Russ.)]
  25. Кассим М, Синдеева ОА, Синдеев СС, Зинченко ЕМ, Уланова МВ, Гекалюк АС и др. Влияние эмоциональных и тяжелых патологических стрессов на уровень артериального давления и продукцию тестостерона у самок и самцов крыс. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. 2015;15(2):46–53. [Kassim M, Sindeeva OA, Sindeev SS, Zinchenko EM, Ulanova MV, Gekalyuk AS, et al. The effect of emotional and severe pathological stresses on the level of arterial pressure and the production of testosterone in female and male rats. *Izvestiya Saratovskogo*

- universiteta. Novaya seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya = Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology.* 2015;15(2):46–53 (In Russ.)]
26. Косырева АМ, Джалилова ДШ, Макарова ОВ, Сладкопечевцев АС. Морфофункциональные изменения тимуса и содержание субпопуляций лимфоцитов в крови у самок крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии при системном воспалительном ответе. *Медицинская иммунология.* 2019;21(4):643–52. [Kosyreva AM, Dzhaliilova DSh, Makarova OV, Sladkoptsev AS. Morpho-functional changes of thymus and contents of blood lymphocyte subpopulations in female Wistar rats with different resistance to hypoxia in systemic inflammatory response. *Medical Immunology (Russia).* 2019;21(4):643–52 (In Russ.)] <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-4-643-652>
  27. Hilliard J, Pang CN, Penardi R, Sawyer CH. Effect of coitus on serum levels of testosterone and LH in male and female rabbits. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1975;149(4):1010–4. <https://doi.org/10.3181/00379727-149-38945>
  28. Zaima U, Anas Sarwar Q, Sarmad R, Misbah I, Tanzeela F, Saqib U. Effects of oral administration of black seed (*Nigella sativa*) oil on histomorphometric dynamics of testes and testosterone profile in rabbits. *Pak J Pharm Sci.* 2017;30(2):531–6. PMID: 28649080
  29. Котлярова АА, Шулькин АВ, Черных ИВ, Якушева ЕН. Особенности кроликов породы Шиншилла как тест-системы для изучения препаратов половых гормонов. *Материалы Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина.* Рязань; 2018. С. 63–4. [Kotlyarova AA, Shchul'kin AV, Chernykh IV, Yakusheva EN. Special considerations for Chinchilla rabbits as a test system for studying sex hormone preparations. *Proceedings of the All-Russian scientific conference of young scientists dedicated to the 95th anniversary of the birth of Professor A.A. Nikulin.* Ryazan; 2018. P. 63–4 (In Russ.)]
  30. Myren CJ, Einer-Jensen N, Bennett P. The physiology of the testes in the Göttingen mini pig. *Z Versuchstierkd.* 1989;32(4):183–7. PMID: 2626885
  31. Faccio LA, Da Silva AS, Tonin AA. Serum levels of LH, FSH, estradiol and progesterone in female rats experimentally infected by *Trypanosoma evansi*. *Experimental Parasitology.* 2013;135(1):110–5. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.06.008>
  32. Mukaddam-Daher S, Jankowski M, Wang D, Menouar A, Gutkowska J. Regulation of cardiac oxytocin system and natriuretic peptide during rat gestation and postpartum. *J Endocrinol.* 2002;175(1):211–6. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1750211>
  33. Røste LS, Taubøll E, Isojarvi JI, Berner A, Berg KA, Pakarinen AJ, et al. Gonadal morphology and sex hormones in male and female Wistar rats after long-term lamotrigine treatment. *Seizure.* 2003;12(8):621–7. [https://doi.org/10.1016/s1059-1311\(03\)00056-6](https://doi.org/10.1016/s1059-1311(03)00056-6)
  34. Мхитаров ВА. Влияние длительного потребления алкоголя в условиях свободного выбора на уровень половых гормонов. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова.* 2010;18(1):44–8. [Mkhitarov VA. Effect of prolonged alcohol consumption in a free elections in the level of sex hormones. *Rossiysky mediko-biologicheskyy vestnik im. akademika I. P. Pavlova = I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2010;18(1):44–8 (In Russ.)]
  35. Peter B, De Rijk EPCT, Zeltner A, Emmen HH. Sexual maturation in the female Göttingen minipig. *Toxicol Pathol.* 2016;44(3):482–5. <https://doi.org/10.1177/0192623315621413>
  36. Meijs-Roelofs HM, de Greef WJ, Uilenbroek JT. Plasma progesterone and its relationship to serum gonadotrophins in immature female rats. *J Endocrinol.* 1975;64(2):329–36. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0640329>
  37. Kriesten K, Murawski U. Concentrations of serum cortisol, progesterone, estradiol-17 beta, cholesterol and cholesterol ester in the doe during the reproductive stadium, in the fetal serum, in the amniotic fluid and in the milk of rabbits, as well as correlations between these parameters. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol.* 1988;90(3):413–20. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(88\)90211-3](https://doi.org/10.1016/0300-9629(88)90211-3)
  38. Noguchi M, Ikedo T, Kawaguchi H, Tanimoto A. Estrus synchronization in micro-minipig using estradiol dipropionate and prostaglandin F2α. *J Reprod Dev.* 2016;62(4):373–8. <https://doi.org/10.1262/jrd.2015-169>
  39. Gharib SD, Wierman ME, Badger TM, Chin WW. Sex steroid hormone regulation of follicle-stimulating hormone subunit messenger ribonucleic acid (mRNA) levels in the rat. *J Clin Invest.* 1987;80(2):294–9. <https://doi.org/10.1172/JCI113072>
  40. Berger M, Jean-Faucher C, de Turckheim M, Veysiere G, Blanc MR, Poirier JC, Jean C. Testosterone, luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) in plasma of rabbit from birth to adulthood. Correlation with sexual and behavioural development. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1982;99(3):459–65. <https://doi.org/10.1530/acta.0.0990459>
  41. Шулькин АВ, Якушева ЕН, Черных ИВ, Виноградов ИЮ, Попова НМ. Экспрессия гликопротеина Р при экспериментальной дисфункции щитовидной железы. *Клиническая и экспериментальная тиреологическая.* 2015;11(3):11–6. [Shchul'kin AV, Yakusheva EN, Chernykh IV, Vinogradov IYu, Popova NM. P-glycoprotein expression in experimental thyroid dysfunction. *Klinicheskaya i eksperimentalnaya tireoidologiya = Clinical and Experimental Thyroidology.* 2015;11(3):11–6 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14341/ket2015311-16>
  42. Noguchi M, Miura N, Ando T, Kubota Ch, Hobo S, Kawaguchi H, Tanimoto A. Profiles of reproductive hormone in the microminipig during the normal estrous cycle. *In Vivo.* 2015;29(1):17–22.
  43. Pitt JA, Buckalew AR, House DE, Abbott BD. Adrenocorticotropin (ACTH) and corticosterone secretion by perfused pituitary and adrenal glands from rodents exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicology.* 2000;151(1–3):25–35. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(00\)00257-2](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00257-2)
  44. Monnier M, Desbals B. Dosage radio-immunologique de l'ACTH chez le lapin: relations stress ACTH-corticostéroïdes et diarrhées. *Reprod Nutr Dev.* 1985;25(6):1017–28. PMID: 3006192

45. Tuchscherer M, Kanitz E, Puppe B, Tuchscherer A. Altered immunomodulation by glucocorticoids in neonatal pigs exposed to a psychosocial stressor. *Pediatr Res.* 2010;68(6):473–8. <https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e3181f70f08>
46. Горенко ИН, Киприянова КЕ, Типисова ЕВ. Тиреоидные гормоны и уровень антител у здоровых жителей Архангельской области. *Экология человека.* 2018;25(9):36–41. [Gorenko IN, Kipriyanova KE, Tipisova EV. Thyroid hormones and antibody level in healthy residents of the Arkhangelsk region. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology.* 2018;25(9):36–41 (In Russ.)] <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-9-36-41>
47. Mortoglou A, Candiloros H. The serum triiodothyronine to thyroxine (T3/T4) ratio in various thyroid disorders and after Levothyroxine replacement therapy. *Hormones (Athens).* 2004;3(2):120–6. <https://doi.org/10.14310/horm.2002.11120>
48. Гончаров НП. Значение и роль методов определения гормонов в развитии эндокринологии как общебиологической науки. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2012;67(3):42–9. [Goncharov NP. Significance and role of hormone detection methods in the development of endocrinology as a biological discipline. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2012;67(3):42–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.15690/vramn.v67i3.184>
49. Campanha FVG, Perone D, de Campos DHS, Luvizotto R, De Sábio MT, et al. Thyroxine increases Serca2 and Ryr2 gene expression in heart failure rats with euthyroid sick syndrome. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(6):582–6. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000208>
50. Saadia Z. Follicle stimulating hormone (LH: FSH) ratio in polycystic ovary syndrome (PCOS) – obese vs. non-obese women. *Med Arch.* 2020;74(4):289–93. <https://doi.org/10.5455/medarh.2020.74.289-293>
51. Morshed MS, Banu H, Akhtar N, Sultana T, Begum A, Zamilla M. Luteinizing hormone to follicle-stimulating hormone ratio significantly correlates with androgen level and manifestations are more frequent with hyperandrogenemia in women with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Metab.* 2021;11(1):14–21. <https://doi.org/10.14740/jem716>
52. Bode G, Clausing P, Gervais F, Loegsted J, Luft J, Noguez V, Sims J. The utility of the minipig as an animal model in regulatory toxicology. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2010;62(3):196–220. <https://doi.org/10.1016/j.yascn.2010.05.009>
53. Черкасова ОП, Федоров ВИ. Одновременное исследование содержания кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона в надпочечниках и плазме крови при остром стрессе. *Проблемы эндокринологии.* 2001;47(1):37–9. [Cherkasova OP, Fedorov VI. Simultaneous measurement of corticosterone and 11-dehydrocorticosterone in the adrenals and plasma in acute stress. *Problemy endokrinologii = Problems of Endocrinology.* 2001;47(1):37–9 (In Russ.)] <https://doi.org/10.14341/probl11315>
54. Кондашевская МВ, Алексанкина ВВ, Артемьева КА, Болтовская МН. Сопоставление адаптивной способности старых и молодых крыс Вистар к стрессорному воздействию и острой гипоксической гипоксии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2021;171(6):783–7. [Kondashevskaya MV, Aleksankina VV, Artemieva KA, Boltovskaya MN. Comparison adaptive capacity of old and young Wistar rats to stress exposure and acute hypoxic hypoxia. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2021;171(6):783–7 (In Russ.)] <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-171-6-783-787>
55. Меркулов ВМ, Климова НВ, Меркулова ТИ. Внутрисуточный ритм секреции глюкокортикоидов и динамика генного ответа. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2015;19(2):214–21. [Merkulov VM, Klimova NV, Merkulova TI. The ultradian rhythm of glucocorticoid secretion and the time course of target gene regulation. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2015;19(2):214–21 (In Russ.)]
56. Умрюхин ПЕ, Григорчук ОС. Кортикостерон крови и ликвора у крыс с различным поведением в открытом поле при стрессорной нагрузке. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2015;11(3):372–4. [Umryukhin PE, Grigorchuk OS. Blood and liquor corticosterone level in the rats with different open field behavior: effects of the stress. *Mezhdunarodny zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy = International Journal of Applied and Fundamental Research.* 2015;11(3):372–4 (In Russ.)]
57. Гостюхина АА, Замощина ТА, Зайцев КВ, Гутор СС, Жукова ОБ, Светлик МВ и др. Адаптивные реакции крыс после световых десинхронозов и физического переутомления. *Бюллетень сибирской медицины.* 2018;17(3):22–34. [Gostyukhina AA, Zamoshchina TA, Zaitsev KV, Gutor SS, Zhukova OB, Svetlik MV, et al. Adaptive reactions of rats after light desynchronization and physical overwork. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018;17(3):22–34 (In Russ.)] <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-22-34>
58. Viau V, Meaney MJ. Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology.* 1991;129(5):2503–11. <https://doi.org/10.1210/endo-129-5-2503>
59. Louch CD, Higginbotham M. The relation between social rank and plasma corticosterone levels in mice. *Gen Comp Endocrinol.* 1967;8(3):441–4. [https://doi.org/10.1016/s0016-6480\(67\)80006-6](https://doi.org/10.1016/s0016-6480(67)80006-6)

**Вклад авторов.** К.Л. Крышень – концепция, сбор, систематизация и обобщение данных, изложенных в нормативных и методических документах и литературе, написание текста рукописи; Н.М. Фаустова – сбор и систематизация экспериментальных данных, подготовка и доработка рукописи; М.Н. Макарова – идея исследования, критический пересмотр текста рукописи и иллюстративного материала, утверждение окончательного варианта рукописи для публикации; В.Г. Макаров – концепция исследования.

**Благодарности.** Работа выполнена как инициативное исследование без финансовой поддержки.

**Конфликт интересов.** М.Н. Макарова является членом редакционной коллегии журнала «Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств», остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

**Authors' contributions.** Kirill L. Kryshen—elaboration of the study concept, collection, systematisation and consolidation of data from regulatory documents, guidelines and literature; writing of the text of the manuscript; Natalia M. Faustova—collection and systematisation of experimental data, preparation and finalisation of the manuscript; Marina N. Makarova—elaboration of the study idea, critical revision of the text and illustrative material, approval of the final version of the manuscript for publication; Valery G. Makarov— elaboration of the study concept.

**Acknowledgements.** The work was performed as unsolicited independent research without financial support.

**Conflict of interest.** Marina N. Makarova is a member of the Editorial Board of *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*, the other authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

#### ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

**Крышень Кирилл Леонидович**, канд. биол. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>  
[kryshen.kl@doclinika.ru](mailto:kryshen.kl@doclinika.ru)

**Фаустова Наталья Михайловна**, канд. хим. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>  
[faustova.nm@doclinika.ru](mailto:faustova.nm@doclinika.ru)

**Макарова Марина Николаевна**, д-р мед. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>  
[makarova.mn@doclinika.ru](mailto:makarova.mn@doclinika.ru)

**Макаров Валерий Геннадиевич**, д-р мед. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>  
[makarov.vg@doclinika.ru](mailto:makarov.vg@doclinika.ru)

**Kirill L. Kryshen**, Cand. Sci. (Biol).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1451-7716>  
[kryshen.kl@doclinika.ru](mailto:kryshen.kl@doclinika.ru)

**Natalia M. Faustova**, Cand. Sci. (Chem.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>  
[faustova.nm@doclinika.ru](mailto:faustova.nm@doclinika.ru)

**Marina N. Makarova**, Dr. Sci (Med.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>  
[makarova.mn@doclinika.ru](mailto:makarova.mn@doclinika.ru)

**Valery G. Makarov**, Dr. Sci. (Med.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>  
[makarov.vg@doclinika.ru](mailto:makarov.vg@doclinika.ru)

Статья поступила 28.10.2021  
После доработки 21.01.2022  
Принята к печати 07.06.2022  
Online first 30.06.2022

Article was received 28 October 2021  
Revised 21 January 2022  
Accepted for publication 07 June 2022  
Online first 30.06.2022