

DOI: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-38-42

УДК 612.6:615.256.51:577.175.64:616-092.9:611.6.08

14.03.01 – анатомия человека

© Р.Т. Сулайманова, 2021



Аногенитальное расстояние как биомаркер пренатального действия эстрогенов и риска развития репродуктивных нарушений потомства

Р. Т. Сулайманова*

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Республика Башкортостан

Целью настоящего исследования явилось изучение аногенитального расстояния потомства лабораторных мышей при пренатальном воздействии эстрогенов на материнский организм.

Материал и методы. Исследование проводилось на половозрелом потомстве лабораторных мышей, матерям которых на стадии гестации Е 11.5 однократно, внутримышечно вводили различные дозы эстрогеновых препаратов. Экспериментальной группе С-50 вводили эстрогеновый препарат синестрол в виде 2% масляного раствора в дозе 50 мкг/кг, группе контроля вводили масло оливковое в дозе 0.2 мкг/кг. Экспериментальной группе Ф-100 вводили эстрогеновый препарат фулвестрант 0.4 мл в виде 0.0005% масляного раствора в дозе 100 мкг/кг, контрольной группе вводили стерильное касторовое масло в дозе 0.8 мкг/кг. Измерение массы тела аногенитального расстояния (далее АГР), индекса АГР было выполнено на половозрелом потомстве лабораторных мышей мужского и женского пола. Полученные данные подвергались статистической обработке.

Результаты. Воздействие препарата синестрола в дозе 50 мкг/кг на потомство мужского пола приводило к укорочению АГР в сравнении с контрольной группой. Препарат фулвестрант в дозе 100 мкг/кг блокирует эстрогеновые рецепторы, в результате работают только андрогеновые, приводящие к усилению маскулинизирующего эффекта, при таком эффекте у потомства мужского пола наблюдалось незначительное увеличение АГР по сравнению с группой контроля. Величина АГР у самок в группе С-50 уменьшалась по сравнению с группой контроля, этот показатель можно считать феминизирующим отсроченным эффектом. Экспериментальная группа самок потомства Ф-100 существенных статистически значимых изменений не показала.

Заключение. Изучение дозозависимых эффектов пренатального введения эстрогенов продемонстрировало как стимулирующее, так и ингибирующее воздействие гормонов на величину АГР. Исследование зависимости АГР от пренатального эффекта эстрогенов позволяет спрогнозировать патологические изменения репродуктивной системы потомства.

Ключевые слова: аногенитальное расстояние, масса тела, потомство, лабораторные мыши, эстрогены.

Anogenital Distance as a Biomarker of Prenatal Estrogen Action and Risk Factor of Reproductive Disorders in Offspring

© R. T. Sulaimanova, 2021

Bashkir State Medical University, Ufa, Republic of Bashkortostan

The aim of this research was to study an anogenital distance of the offspring of laboratory mice after prenatal exposure to estrogens.

Material and methods. The study included sexually mature laboratory mice and their mothers that were injected with various single doses of estrogen preparations intramuscularly at the E 11.5 gestation stage. The mice of the experimental group C-50 were injected with 2% oil solution of synestrol, dosage 50 µg/kg, the mice of the control group were injected with olive oil, dosage 0.2 µg/kg. The mice of the experimental group F-100 were injected with 0.4 ml of 0.0005% fulvestrant oil solution, dosage 100 µg/kg, the mice of the control group were injected with sterile castor oil, dosage 0.8 µg/kg. The body weight, the anogenital distance (AGD), the AGD index were measured in sexually mature offspring of laboratory mice, male and female. The data obtained were statistically processed.

Results. The exposure of male offspring to synestrol, dosage 50 µg/kg, caused an AGD reduction compared with the mice in the control group. Fulvestrant, dosage 100 µg/kg, blocked estrogen receptors; as a result, only androgen receptors worked, the fact leading to an increased masculinizing effect; with this effect a slight increase in AGD was observed in male offspring compared to the mice of the control group. The AGD parameters in female mice of the experimental group C-50 decreased compared with the mice of the control group; this parameter can be considered as a feminizing delayed effect. The female mice of the experimental group F-100 showed no statistically significant changes.

Conclusion. The study of dose-dependent effects of prenatal estrogen administration demonstrated both stimulating and inhibitory effects of hormones on the AGD parameters. The study of AGD dependence on the prenatal effect of estrogens allows early identification of pathological changes in the reproductive system of the offspring.

Key words: anogenital distance, body weight, offspring, laboratory mice, estrogens.

***Автор для переписки:**

Сулайманова Римма Тагировна
Башкирский государственный медицинский университет,
ул. Ленина, 3, Уфа, 450008, Российская Федерация

***Corresponding author:**

Rimma Sulaimanova
Bashkir State Medical University, ul. Lenina, 3, Ufa, 450008,
Russian Federation

E-mail: rimma2006@bk.ru

Введение

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 человека и животных, она не зависит от пола развивающегося плода. Система мать–плацента–плод способна изменить концентрацию эстрогенов фетальной крови и может привести в лучшем случае к модулирующим, в худшем – провоцирующим (в том числе 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 получающих все больший размах в исследованиях как за рубежом, так и в нашей стране [4, 16, 18].

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 [6, 14, 19].

Дозазависимый эффект уровня эстрогенов на нарастание гиперактивности новорожденных, у половозрелых животных – депрессивных и тревожных состояний отмечались достаточно большим количеством авторов, подтверждающий решающее значение уровня фетальных гормонов на нормальное развитие плода [12, 13]. Фенотипическими показателями токсического воздействия пренатального уровня женских половых гормонов является масса тела потомства, длина тела потомства, аногенитальное расстояние (АГР) и ряд других анатомометрических показателей [2, 10, 17].

В последнее время в репродуктологии одной из точек обострения внимания многих ученых стало АГР. Этот параметр 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 [3, 15].

АГР – универсальный биомаркер, индикатор, который определяется в целом пренатальными эффектами гормонов, оказывающими морфогенетические эффекты на развитие и формирование репродуктивной системы. С клинической точки зрения АГР имеет несколько привлекательных свойств, поскольку является легко доступным и неинвазивным методом исследования репродуктивного статуса. Данный термин используется для обозначения расстояния от ануса до мочевого отверстия [20, 22].

Исследования АГР 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 АГР было значительно короче среднего значения по сравнению с мужчинами с нормально функционирующей репродуктивной системой. Также было установлено, что с увеличением АГР увеличивается общая концентрация спермы и возрастает подвижность сперматозоидов [9].

Размеры половых желез самцов зависят от уровня андрогенов в организме, как в пренатальном, так и в постнатальном периодах. Исследования установили корреляцию между величиной АГР и статусом доминирования для самцов домовых мышей. В последующем они связали данное соответствие с уровнем продукции половых гормонов в организме самца в пренатальном периоде [8].

АГР считается биомаркером, способным как ретроспективно определять нарушение андрогенов в раннем возрасте, так и предсказывать поздние репродуктивные нарушения у мужского потомства [7, 20].

У потомства женского пола АГР отражает фолликулярный резерв яичников при пренатальном действии половых стероидных гормонов [11].

В исследованиях пренатального воздействия токсических веществ на грызунов АГР используется в качестве полезного индикатора маскулинизации и феминизации, направленный на тестирование соединений эндокринной активности и антиандрогенных свойств, а также в эпидемиологических исследованиях, для выявления корреляций воздействия разрушающих химических веществ на плод [5].

Материал и методы исследования

Исследования выполнялись на самках лабораторных мышах (n=12) и самцах (n=4) массой 19–21 г, полученных в питомнике ГУП ДП ПСХ «Питомник лабораторных животных» Республики Башкортостан, Чишминского района, с. Горный, (справка № 179 от

30.06.2014 г.). Подопытные животные содержались в стандартных условиях при круглосуточном доступе к воде и пище. Все эксперименты, уход и содержание осуществлялись в соответствии с Директивой № 63 от 22 сентября 2010 г. Президиума парламента Европы «О защите животных, используемых для научных исследований», «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993 г. и приказом Минздрава РФ №267 от 19.06.2003г. «Об утверждении лабораторной практики».

После фертилизации беременных самок лабораторных мышей разделили на 4 группы – две контрольные и две экспериментальные группы. Учитывая физиологическую экспрессию гормонов мышей каждой самке в отдельности на стадии гестации Е 11.5 беременности в одно и тоже время суток, однократно, внутримышечно вводили различные дозы исследуемых препаратов. Контрольной группе (контроль МО) животных (n=3) вводили масло оливковое в дозе 0.2 мкг/кг. Экспериментальной группе животных С-50 (n=3) вводили эстрогеновый препарат синестрол в виде 2% масляного раствора в дозе 50 мкг/кг. Контрольной группе животных (n=3) вводили стерильное касторовое масло (контроль МК) в дозе 0.8 мкг/кг. Экспериментальная группа животных Ф-100 (n=3) получала эстрогеновый препарат фулвестрант 0.4 мл в виде 0.0005% масляного раствора в дозе 100 мкг/кг. Расчеты эффективности доз препаратов проводили в соответствии с коэффициентом для перерасчета доз веществ в мкг/кг для мышей [1].

У большинства животных роды происходили на 20–21-е сутки беременности. Родившееся потомство (n=20), (по 5 животных, рожденных от самок каждой группы) оставляли с матерью до 30 суток, после чего самцов и самок отсаживали в отдельную клетку, и по достижению потомством половозрелого возраста производили анатомометрические измерения массы тела, АГР и индекса АГР.

Определение массы тела проводили с помощью электронных весов BW-500, с погрешностью 0.01 г (до 50 г). Для измерения АГР применяли электронный штангенциркуль Digital Caliper со встроенным ЖК-дисплеем; в диапазоне 0–150 мм, с точностью до 0.01 мм. При измерении АГР лабораторных животных фиксировали, удерживая одной рукой, стягивая ее в пригоршню за кожу на холке, спине и крестце, при таком способе фиксации кожа в аногенитальной области оказывается плотно натянутой. Индекс АГР рассчитывался по формуле [21]:

$$\text{Индекс АГР} = (\text{АГР} / \text{М}) \times 100,$$

где АГР – аногенитальное расстояние (мм),
М – масса тела животного (г).

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 7.0» и «Microsoft Excel». Данные были проанализированы методом дисперсионного анализа (ANOVA). Для каждого признака определяли: среднее арифметическое значение (М) и среднеквадратическое отклонение (σ), данные были представлены в виде $M \pm \sigma$.

Результаты и их обсуждения

В результате измерений параметров массы тела, АГР и индекса АГР потомства лабораторных мышей были получены следующие результаты. Сравнение величины массы тела потомства самцов в исследуемых группах статистически значимых изменений не показало (табл. 1). У потомства женского пола в группе контроля МК масса тела составляла 22.00 ± 1.00 г, в то время как в экспериментальной группе Ф-100 – 16.11 ± 2.49 г, разница между средними величинами составила 5.89 г. Незначительное уменьшение массы тела также наблюдалось в экспериментальной группе С-50 по сравнению с группой контроля МО (табл. 2).

Воздействие препарата синестрола в дозе 50 мкг/кг у потомства лабораторных мышей мужского пола приводило к уменьшению АГР (1.22 ± 0.14 мм) по сравнению с группой контроля МО (1.36 ± 0.04 мм). Результаты нашего исследования согласуются с результатами Mandrup et al. (2013) [16], Schwartz C.L. (2019) [18], в исследованиях которых сообщается об уменьшении АГР в мужском потомстве, вызванное снижением выработки тестостерона. При воздействии высоких доз эстрогенов экспрессия рецепторов эстрогенов снижается и демонстрируются «антиандрогенные эффекты». Эти эффекты можно считать онтогенетически отсроченными, феминизирующими. В экспериментальной группе Ф-100 наблюдалось незначительно увеличение АГР (1.70 ± 0.07 мм) по сравнению с контрольной группой МК (1.53 ± 0.12 мм) (табл. 1). Препарат 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 препарата синестрола в дозе 50 ожидалось увеличение величины АГР, в соответствии с исследованиями Fouquereau T.D. et al. (2014) [11], однако полученные нами результаты отличались от предполагаемых. Величина АГР у самок в группе С-50 уменьшилась (0.52 ± 0.08 мм) по сравнению с группой контроля МО (0.69 ± 0.10 мм), этот показатель можно считать феминизирующим отсроченным эффектом. В экспериментальной группе Ф-100

Таблица 1

Анатометрические параметры массы тела и аногенитального расстояния самцов потомства лабораторных мышей, М±σ

Параметры	Контрольная МО	С-50 мкг/кг	Контрольная МК	Ф-100 мкг/кг
Масса тела (г)	22.78±2.94	22.34±0.98	22.08±3.51	21.23±1.69
АГР (мм)	1.36±0.04	1.22±0.14*	1.53±0.12	1.70±0.07*
Индекс АГР	6.07±0.69	5.46±0.67	6.99±0.58	8.02±0.28

Примечание: АГР – аногенитальное расстояние; * – статистически значимые различия, по сравнению с показателем в контрольной группе, $p < 0.05$.

Таблица 2

Анатометрические параметры массы тела и аногенитального расстояния самок потомства лабораторных мышей, М±σ

Параметры	Контрольная МО	С-50 мкг/кг	Контрольная МК	Ф-100 мкг/кг
Масса тела (г)	20.48±0.94	20.11±2.36	22.00±1.00	16.11±2.49
АГР (мм)	0.69±0.10	0.52±0.08*	0.54±0.06	0.58±0.08*
Индекс АГР	3.35±0.35	2.57±0.20	2.46±0.18	3.61±0.15

Примечание: АГР – аногенитальное расстояние; * – статистически значимые различия, по сравнению с показателем в контрольной группе, $p < 0.05$.

существенных статистически значимых изменений не наблюдалось (табл. 2).

Индекс АГР у потомства мужского и женского пола статистически значимых изменений не показал (табл. 1, 2).

Расхождения в результатах исследования представляет для нас интерес с целью дальнейшего изучения в этой области. Полученные результаты актуальны для неинвазивных методов исследования и не были представлены ранее.

Заключение

Изучение пренатального воздействия эстрогенов у лабораторных мышей отразилось на изменении аногенитального расстояния – 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.

Таким образом, исследование дозозависимых эффектов пренатального влияния эстрогенов оказывает как стимулирующее, так и ингибирующее воздействие гормонов на величину аногенитального расстояния потомства. Исследование зависимости аногенитального расстояния от пренатального эффекта эстрогенов позволяет спрогнозировать патологические изменения репродуктивной системы потомства.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

1. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований. Токсикологический вестник. 2010;5(104):2–6 [Gus'kova TA. Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of their safe clinical investigations. Toxicological Review. 2010;5(104):2–6] (in Russian).
2. Мельник С.А. Изучение корреляции между некоторыми морфометрическими параметрами самцов лабораторных мышей. Наука и современность. 2010;2(1):33–7 [Mel'nik SA. Izuchenie korrelyatsii mezhdu nekotoryimi morfometricheskimi parametrami samtsov laboratornykh myshei. Nauka i sovremennost'. 2010; 2(1): 33–7] (in Russian).
3. Роговин К.А., Шекарова О.Н., Хрущова А.М. О возможности неинвазивной оценки репродуктивного статуса самцов хомячка Кэмпбелла (*Phodopus Campbelli*) по цифровым фотоснимкам. Зоологический журнал. 2011;90(1):67–70 [Ranyuk MN, Monakhov VG. Variability of craniological characteristics in acclimatized sables (*Martes Zibellina*) populations. Zoologicheskii zhurnal. 2011;90(1):67–70] (in Russian).
4. Сулайманова Р.Т. Эффекты пренатального воздействия субтоксической дозы синестрола на яичники потомства лабораторных мышей. Морфологические ведомости. 2020; 28(1):37–42 [Sulaymanova RT. Effects of the prenatal injection to laboratory mice of the synestrol subtoxic dose on ovaries of the offspring. Morphological newsletter. 2020 Jul 28;28(1):37–42] (in Russian). doi: 10.20340/mv-mn.2020.28(1):37-42
5. Сулайманова Р.Т. Хайруллин Р.М. Использование аногенитального расстояния в оценке пренатальных феминизирующих эффектов эстрогенов на потомство мужского пола в эксперименте. Фундаментальные и прикладные аспекты морфогенеза человека: материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. Оренбург: 2017; 196–8 [Sulaymanova RT, Khayrullin RM. Ispol'zovanie anogenital'nogo rassstoyaniya v otsenke prenatal'nykh feminiziruyushchikh effektov estrogenov na potomstvo muzhskogo pola v

- eksperimente. Fundamental'nye i prikladnye aspekty morfogeneza cheloveka: materialy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem. Orenburg: 2017; 196–8] (in Russian).
6. Фомина А.В., Тихонов Д.А., Зеркалова Ю.Ф., Хайруллин Р.М. Пренатальное воздействие тестостерона пропионата на аногенитальное расстояние у лабораторных мышей / В кн.: Репродуктивное здоровье как фактор демографической стабилизации. Первый национальный форум. Ростов-на-Дону: РостГМУ; 2012 [Fomina AV, Tikhonov DA, Zerkalova YuF, Khayrullin RM. Prenatal'noe vozdeystvie testosterona propionata na anogenital'noe rasstoyanie u laboratornykh myshey / V kn.: Reproductivnoe zdorov'ye kak faktor demograficheskoy stabilizatsii. Pervyy natsional'nyy forum. Rostov-na-Donu: RostGMU; 2012] (in Russian).
 7. Dean A, Sharpe RM. Anogenital Distance or Digit Length Ratio as Measures of Fetal Androgen Exposure: Relationship to Male Reproductive Development and Its Disorders. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2013 Jun;98(6):2230–8. doi: 10.1210/jc.2012-4057
 8. Drickamer LC, Vom Saal FS, Marriner LM, Mossman CA. Anogenital distance and dominance status in male house mice (*Mus domesticus*). Aggressive Behavior. 1995;21(4):301–9. doi: 10.1002/1098-2337(1995)21
 9. Eisenberg ML, Lipshultz LI. Anogenital distance as a measure of human male fertility. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2014 Dec 23;32(3):479–84. doi: 10.1007/s10815-014-0410-1
 10. Fabregues F, González-Foruria I, Peñarrubia J, Carmona F. Ovarian response is associated with anogenital distance in patients undergoing controlled ovarian stimulation for IVF. Human Reproduction. 2018 Jul 16;33(9):1696–704. doi: 10.1093/humrep/dey244
 11. Fouqueray TD, Blumstein DT, Monclús R, Martin JGA. Maternal Effects on Anogenital Distance in a Wild Marmot Population. Alemany M, editor. PLoS ONE. 2014 Mar 20;9(3):e92718. doi: 10.1371/journal.pone.0092718
 12. Gandelman R, Rosenthal C. Deleterious effects of prenatal prednisolone exposure upon morphological and behavioral development of mice. Teratology. 1981 Dec;24(3):293–301. doi: 10.1002/tera.1420240308
 13. Gioiosa L, Fissore E, Ghirardelli G, Parmigiani S, Palanza P. Developmental exposure to low-dose estrogenic endocrine disruptors alters sex differences in exploration and emotional responses in mice. Hormones and Behavior. 2007 Sep;52(3):307–16. doi: 10.1016/j.yhbeh.2007.05.006
 14. Johansson HKL, Svingen T, Fowler PA, Vinggaard AM, Boberg J. Environmental influences on ovarian dysgenesis — developmental windows sensitive to chemical exposures. Nature Reviews Endocrinology. 2017 Apr 28;13(7):400–14. doi: 10.1038/nrendo.2017.36
 15. Khayrullin RM, Sulaymanova RT, Bakhtiyarov RI, Yusupova LR, Fomina AV. Comparative prenatal effects of sex steroids on anogenital distance of the offspring of laboratory mice. Bratislava: The 7th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy Book of abstracts ISCAA; 2015: 140. doi: 10.13140/RG.2.1.3561.9283
 16. Mandrup KR, Jacobsen PR, Isling LK, Axelstad M, Dreisig K, Hadrup N, et al. Effects of perinatal ethinyl estradiol exposure in male and female Wistar rats. Reproductive Toxicology. 2013 Dec;42:180–91. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.09.001
 17. Mira-Escolano M-P, Mendiola J, Mínguez-Alarcón L, Roca M, Cutillas-Tolín A, López-Espín JJ, et al. Anogenital distance of women in relation to their mother's gynaecological characteristics before or during pregnancy. Reproductive BioMedicine Online. 2014 Feb;28(2):209–15. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.09.026
 18. Schwartz CL, Christiansen S, Vinggaard AM, Axelstad M, Hass U, Svingen T. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders. Archives of Toxicology. 2018 Nov 14;93(2):253–72. doi: 10.1007/s00204-018-2350-5
 19. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Buck Louis GM, Toppari J, Andersson A-M, Eisenberg ML, et al. Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. Physiological Reviews. 2016 Jan;96(1):55–97. doi: 10.1152/physrev.00017.2015
 20. Thankamony A, Pasterski V, Ong KK, Acerini CL, Hughes IA. Anogenital distance as a marker of androgen exposure in humans. Andrology. 2016 Feb 4;4(4):616–25. doi: 10.1111/andr.12156
 21. Vandenberg JG, Huggett CL. The anogenital distance index, a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice. Lab Anim Sci. 1995 Oct;45(5):567–73.
 22. Wu Y, Zhong G, Chen S, Zheng C, Liao D, Xie M. Polycystic ovary syndrome is associated with anogenital distance, a marker of prenatal androgen exposure. Human Reproduction. 2017 Mar 1;32(4):937–43. doi: 10.1093/humrep/dex042

Поступила в редакцию 15.02.2021

Принята в печать 1.06.2021

Received 15.02.2021

Accepted 1.06.2021

Для цитирования: Сулайманова Р.Т. Аногенитальное расстояние как биомаркер пренатального действия эстрогенов и риска развития репродуктивных нарушений потомства. Журнал анатомии и гистопатологии. 2021; 10(2): 38–42. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-38-42

For citation: Sulaimanova R.T. Anogenital Distance as a Biomarker of Prenatal Estrogen Action and Risk Factor of Reproductive Disorders in Offspring. Journal of Anatomy and Histopathology. 2021; 10(2): 38–42. doi: 10.18499/2225-7357-2021-10-2-38-42