

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛОВЫХ РАЗЛИЧИЙ АНОГЕНИТАЛЬНОГО РАССТОЯНИЯ У ПОТОМСТВА ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

© Зульфия Избардовна Идрисова¹, Элина Ринатовна Акрамова¹, Антон Сергеевич Выродов², Александр Михайлович Рухлов², Римма Тагировна Сулайманова^{1,2}

¹ Башкирский государственный медицинский университет. 450008, Уфа, ул. Ленина, д. 3

² Университет РЕАВИЗ. 198099, Санкт-Петербург, ул. Калинина, д. 8, корп. 2, лит. А

Контактная информация: Зульфия Избардовна Идрисова — студентка 2 курса лечебного факультета.
E-mail: idrisovazulfiya2001@gmail.com

Поступила: 29.03.2021

Одобрена: 21.04.2021

Принята к печати: 17.06.2021

РЕЗЮМЕ: Аногенитальное расстояние — это расстояние между анусом и внешними гениталиями. Представляет собой половой диморфизм, положительно коррелирующий с воздействием андрогенов на плод как у грызунов, так и у человека. В соответствии с этим целью данного исследования явилось определение половых различий аногенитального расстояния у потомства лабораторных мышей. Эксперимент был выполнен на потомстве лабораторных мышей на 90-е сутки. Экспериментальные животные развивались в условиях физиологической беременности без какого-либо вмешательства извне в период их пренатального развития и содержались в стандартных условиях при круглосуточном доступе к воде и пище. Объектами исследования послужили величины: масса тела, аногенитальное расстояние, индекс аногенитального расстояния потомства лабораторных мышей. Результаты исследования демонстрируют половые различия в массе тела, аногенитальном расстоянии и аногенитальном индексе самок (в сравнении с параметрами тела самцов лабораторных мышей).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аногенитальное расстояние; аногенитальный индекс; масса тела; потомство; лабораторные мыши.

STUDY OF SEXUAL DIFFERENCES IN ANOGENITAL DISTANCES IN THE PROCEDURE OF LABORATE MICE

© Zul'fiya I. Idrisova¹, Jelina R. Akramova¹, Anton S. Vyrodov², Aleksandr M. Ruhlov², Rimma T. Sulaymanova^{1,2}

¹ Bashkir State Medical University. 450008, Russia, Ufa, Lenina str., 3

² University REAVIZ. 198099, Russia, Saint-Petersburg, Kalinina str., 8, case 2, letter A

Contact information: Zul'fiya I. Idrisova — 2nd year student of the Medical Faculty. E-mail: idrisovazulfiya2001@gmail.com

Received: 29.03.2021

Revised: 21.04.2021

Accepted: 17.06.2021

ABSTRACT: The anogenital distance is the distance between the anus and the external genitals. It is a sexual dimorphism that positively correlates with the effects of androgens on the fetus in both rodents and humans. In accordance with this, the aim of this study was to determine the sex differences in the anogenital distance in the offspring of laboratory mice. The experiment was performed on the offspring of laboratory mice on day 90. The experimental animals developed under conditions of physiological pregnancy without any outside interference during their prenatal development. And they were kept under standard conditions with round-the-clock access to water and food. The objects of the study were the following values: body weight, anogenital distance, anogenital distance index of the offspring of laboratory mice. The results obtained indicate that the anogenital index does not depend on body weight,

but with a high degree of probability depends on the sexual offspring of female and male laboratory mice.

KEY WORDS: anogenital distance; anogenital index; body weight; offspring; laboratory mice.

ВВЕДЕНИЕ

Аногенитальное расстояние (АГР) — это расстояние между анусом и внешними гениталиями [2, 3]. Представляет собой половой диморфизм, положительно коррелирующий с воздействием андрогенов на плод как у грызунов, так и у человека [11, 13]. Андрогены стимулируют маскулинизацию наружных половых органов и опущение яичка в мошонку. Нарушение или недостаточность их действия, спровоцированные воздействием фталатов или других соединений с антиандрогенными свойствами в 8–15 недель гестации, характеризуется пороками развития половой системы при рождении и репродуктивными нарушениями во взрослом возрасте, что отражается сокращением АГР у потомства мужского пола [4, 7, 8, 12]. Исследование изменений уровня тестостерона и его метаболита, дигидротестостерона, после критического периода эмбрионального развития не выявило влияния на длину АГР у самцов [14]. У потомства женского пола удлинение АГР коррелирует с увеличением уровня тестостерона и фолликулярного резерва яичников, тогда как укорочение связано с эндометриозом [5, 9, 10].

Агентство по охране окружающей среды США идентифицировало АГР как антропометрический биомаркер неинвазивных исследований маскулинизации и репродуктивной токсичности у животных и человека [6].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение половых различий аногенитального расстояния у лабораторных мышей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве экспериментальных животных использовали потомство самок лабораторных мышей массой 19–26 г ($n=26$) и самцов массой 26–31 г ($n=26$), которые были получены в питомнике ГУП ДП ПСХ «Питомник лабораторных животных», расположенном по адресу: Республика Башкортостан, с. Горный (справка № 179 от 30.06.2014 года).

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 22.09.2010 г. Президиума и 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 России № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении лабораторной практики».

Объектами исследования послужили величины: масса тела, аногенитальное расстояние и индекс аногенитального расстояния (АГИ) потомства лабораторных мышей.

Определение массы тела проводилось с помощью электронных весов BW-500 с погрешностью 0,01 г (до 50 г) (рис. 1).

Измерение АГР проводили с использованием электронного штангенциркуля ЭШЦ-1 с точностью до 0,01 мм как расстояние между



Рис. 1. Измерение массы тела лабораторной мыши с помощью электронных весов BW-500 с погрешностью 0,01 г

Fig. 1. Measurement of the body weight of a laboratory mouse using an electronic scale BW-500 with an error of 0.01 g

анальным отверстием и мочеполовым сосочком (рис. 2) [1, 15].

При измерении лабораторных животных фиксировали, удерживая одной рукой и растягивая ее в пригоршню за кожу на холке, спине и крестце. При таком способе фиксации кожа в аногенитальной области оказывалась плотно натянутой. Индекс АГР рассчитывался по формуле [15]:

Индекс АГР = (АГР (мм) / (Масса (г)) × 100, где АГР — аногенитальное расстояние; Масса — масса тела экспериментального животного.

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 М±σ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средние значения анатометрических параметров массы тела самцов (n=26) составили 28,6±2,95, АГР — 1,42±0,21, АГИ — 5,07±0,71 (табл. 1).

Средние величины анатометрических параметров массы тела самок (n=26) равны 23,9±4,38, АГР — 0,58±0,14, АГИ — 2,54±0,83 (см. табл. 1).

Возрастание значений массы тела у потомства мужского пола лабораторных мышей коррелирует с удлинением аногенитального расстояния (АГР), что демонстрируется на рисунке 3.

Возрастание значений массы тела у потомства женского пола лабораторных мышей коррелирует с укорочением АГР, что представлено на рисунке 4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования демонстрируют половые различия в массе тела, АГР и АГИ самок в сравнении с параметрами тела самцов



Рис. 2. Измерение аногенитального расстояния лабораторной мыши с использованием электронного штангенциркуля ЭШЦ-1 с точностью до 0,01 мм

Fig. 2. Measurement of the anogenital distance of a laboratory mouse using an electronic caliper ShTs-1 with an accuracy of 0.01 mm

лабораторных мышей. Полученные результаты свидетельствуют о том, что АГИ не зависит от массы тела, но с высокой долей вероятности зависит от половой принадлежности потомства самок и самцов лабораторных мышей. Экспериментальная модель потомства лабораторных мышей может послужить прототипом при исследовании параметров массы тела, АГР, АГИ.

Примечание. Материалы II Санкт-Петербургского симпозиума по морфологии ребенка в рамках конгресса «Здоровые дети — будущее страны», 28.05.2021 года, г. Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фомина А.В., Тихонов Д.А., Зеркалова Ю.Ф., Хайруллин Р.М. Пренатальное воздействие тестостерона пропионата на аногенитальное расстояние у

Таблица 1 / Table 1

Анатометрические параметры массы тела, АГР и АГИ лабораторных мышей, М±σ
Anatomometric parameters of body weight, AGR and AGI of laboratory mice, М±σ

Параметры	М±σ ♂	CV% ♂	М±σ ♀	CV% ♀	p<
Масса тела	28,6±2,95 (n=26)	10,3	23,9±4,38 (n=26)	18,4	0,000018
АГР	1,42±0,21 (n=26)	14,8	0,58±0,14 (n=26)	24,3	0,000000
АГИ	5,07±0,71 (n=26)	14,0	2,54±0,83 (n=26)	32,5	0,000000

Примечание: АГР — аногенитальное расстояние; АГИ — аногенитальный индекс.

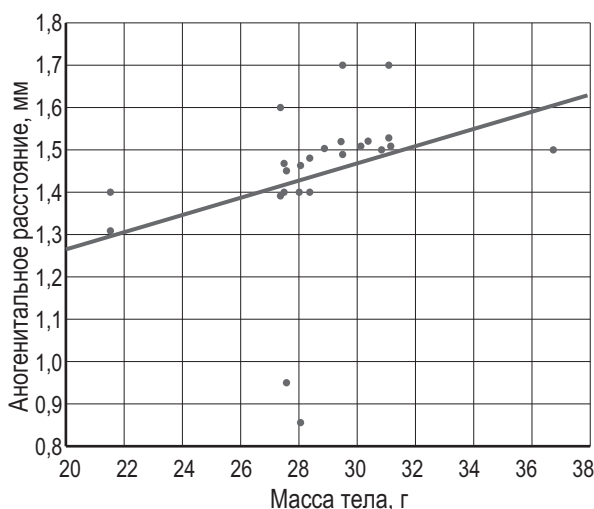


Рис. 3. График зависимости аногенитального расстояния от массы тела самцов мышей

Fig. 3. Graf of the dependence of the anogenital distance on the body weight of male mice

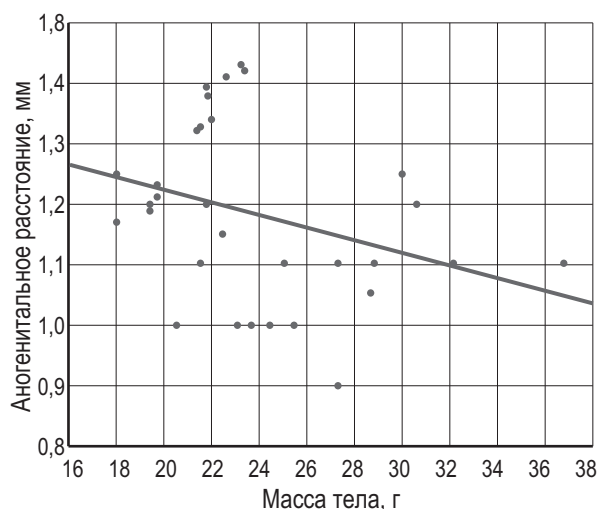


Рис. 4. График зависимости аногенитального расстояния от массы тела самок мышей

Fig. 4. Graf of the dependence of the anogenital distance on the body weight of female mice

- лабораторных мышей. Репродуктивное здоровье как фактор демографической стабилизации. 2012; 4: 74–5.
2. Шекарова О.Н., Хрущова А.М., Роговин К.А. О возможности неинвазивной оценки репродуктивного статуса самцов хомячка Кампбелла (*Phodopus Campbelli*) по цифровым фотоснимкам. Зоологический журнал. 2011; 1: 67–70.
 3. Drickemer L.C. Anogenital distance and dominance status in male house mice (*Mus domesticus*). *Aggress. Behav.* 1995; 21(4): 301–9.
 4. Foster P.M. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *Int J Androl.* 2006; 29(1): 140–7.
 5. Fouqueray T.D., Blumstein D.T., Monclús R. et al. Maternal effects on anogenital distance in a wild marmot population. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92718.
 6. Gore A.C., Chappell V.A., Fenton S.E. et al. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev.* 2015; 36(6): E1–150.
 7. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Bakhtiyarov R.I. et al. 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.
 8. Kristensen D.M., Hass U., Lesné L. et al. Intrauterine exposure to mild analgesics is a risk factor for development of male reproductive disorders in human and rat. *Hum Reprod.* 2011; 26(1): 235–44.
 9. Mendiola J., Sánchez-Ferrer M.L., Jiménez-Velázquez R. et al. Endometriomas and deep infiltrating endometriosis in adulthood are strongly associated with anogenital distance, a biomarker for prenatal hormonal environment. *Hum Reprod.* 2016; 31(10): 2377–8.
 10. Mira-Escolano M.P., Mendiola J., Mínguez-Alarcón L. et al. Longer anogenital distance is associated with higher testosterone levels in women: a cross-sectional study. *BJOG.* 2014; 121(11): 1359–64.
 11. Salazar-Martinez E., Romano-Riquer P., Yan- ez-Marquez E. et al. Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. *Environ Health.* 2004; 3(1): 8.
 12. Scott H.M., Hutchison G.R., Jobling M.S. et al. Relationship between androgen action in the “male programming window,” fetal Sertoli cell number, and adult testis size in the rat. *Endocrinology.* 2008; 149(10): 5280–7.
 13. Thankamony A., Ong K.K., Dunger D.B. et al. Anogenital distance from birth to 2 years: a population study. *Environ Health Perspect.* 2009; 117(11): 1786–90.
 14. van den Driesche S., Kilcoyne K.R., Wagner I. et al. Experimentally induced testicular dysgenesis syndrome originates in the masculinization programming window. *JCI Insight.* 2017; 2(6): 91204.
 15. Vandenbergh J. G., Huggett C.L. 1995. The anogenital distance index: a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice. *Lab. Anim Sci.* 1995; 45(5): 567–73.

REFERENCES

- Reproduktivnoye zdorov'ye kak faktor demograficheskoy stabilizatsii. 2012; 4: 74–5. (in Russian)
2. Shekarova O.N., Khrushchova A.M., Rogovin K.A. O vozmozhnosti neinvazivnoy otsenki reproduktivnogo statusa samtsov khomyachka Kampbella (Phodopus Campbelli) po tsifrovym fotosnimkam. [On the possibility of non-invasive assessment of the reproductive status of males Campbell hamster (Phodopus Campbelli) according to digital photographs]. Zoologicheskii zhurnal. 2011; 1: 67–70. (in Russian)
 3. Drickemer L.C. Anogenital distance and dominance status in male house mice (*Mus domesticus*). *Aggress. Behav.* 1995; 21(4): 301–9.
 4. Foster P.M. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *Int J Androl.* 2006; 29(1): 140–7.
 5. Fouqueray T.D., Blumstein D.T., Monclús R. et al. Maternal effects on anogenital distance in a wild marmot population. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92718.
 6. Gore A.C., Chappell V.A., Fenton S.E. et al. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev.* 2015; 36(6): E1–150.
 7. Khayrullin R.M., Sulaymanova R.T., Bakhtiyarov R.I. et al. 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.
 8. Kristensen D.M., Hass U., Lesné L. et al. Intrauterine exposure to mild analgesics is a risk factor for development of male reproductive disorders in human and rat. *Hum Reprod.* 2011; 26(1): 235–44.
 9. Mendiola J., Sánchez-Ferrer M.L., Jiménez-Velázquez R. et al. Endometriomas and deep infiltrating endometriosis in adulthood are strongly associated with anogenital distance, a biomarker for prenatal hormonal environment. *Hum Reprod.* 2016; 31(10): 2377–8.
 10. Mira-Escolano M.P., Mendiola J., Mínguez-Alarcón L. et al. Longer anogenital distance is associated with higher testosterone levels in women: a cross-sectional study. *BJOG.* 2014; 121(11): 1359–64.
 11. Salazar-Martinez E., Romano-Riquer P., Yanez-Marquez E. et al. Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. *Environ Health.* 2004; 3(1): 8.
 12. Scott H.M., Hutchison G.R., Jobling M.S. et al. Relationship between androgen action in the “male programming window,” fetal Sertoli cell number, and adult testis size in the rat. *Endocrinology.* 2008; 149(10): 5280–7.
 13. Thankamony A., Ong K.K., Dunger D.B. et al. Anogenital distance from birth to 2 years: a population study. *Environ Health Perspect.* 2009; 117(11): 1786–90.
 14. van den Driesche S., Kilcoyne K.R., Wagner I. et al. Experimentally induced testicular dysgenesis syndrome originates in the masculinization programming window. *JCI Insight.* 2017; 2(6): 91204.
 15. Vandenbergh J.G., Huggett C.L. 1995. The anogenital distance index: a predictor of the intrauterine position effects on reproduction in female house mice. *Lab. Anim Sci.* 1995; 45(5): 567–73.