

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
федеральное государственное бюджетное учреждение
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ
И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

СЫРКАШЕВА
Анастасия Григорьевна

**ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ,
ОБУСЛОВЛЕННЫХ НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ВЛИЯНИЕМ
АНТРОПОГЕННЫХ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, НА ОСНОВАНИИ
ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПОДХОДА К ПРЕГРАВИДАРНОЙ
ПОДГОТОВКЕ**

3.1.4. - акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Научный консультант:

**доктор медицинских наук, профессор
Долгушина Н.В.**

Москва 2022

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. Влияние антропогенных химических веществ на репродукцию у человека.	13
1.1. Бесплодие как медико-социальная проблема XXI века	13
1.2. Антропогенные химические вещества: определение, классификация, общие данные..	19
1.2.1. Тяжелые металлы	23
1.2.2. Органические соединения	30
1.3. Патогенетические механизмы влияния АХВ на репродуктивную систему	35
1.4. Генетические аспекты системы детоксикации	39
1.5. Антиоксидантная терапия.....	43
1.5.1. Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты.....	44
1.5.2.Кофермент Q	47
1.5.5. Антиоксиданты при бесплодии: доказательная база.....	49
1.6 Витамин Д и антропогенное загрязнение	50
Глава 2. Материалы и методы исследования.	54
2.1. Дизайн исследования для задачи 1.	55
2.3. Дизайн исследования для задачи 3.	55
2.3. Дизайн исследования для задачи 4.	56
2.4. Дизайн исследования для задачи 5.	56
2.5. Дизайн исследования для задачи 6.	57
2.6. Дизайн исследования для задачи 7.	57
2.7 Дизайн исследования для задачи 8	58
2.8. Критерии включения и исключения.....	58
2.9. Расчет объема выборки.....	59
2.10. Методы исследования	60
2.10.1. Общеклинические методы исследования.....	62
2.10.2. Ультразвуковое исследование органов малого таза	64
2.10.3. Гормональное исследование	65
2.10.4. Исследование эякулята	65
2.10.5. Овариальная стимуляция и	66
трансвагинальная пункция фолликулов	66
2.10.6. Морфологическая оценка ооцитов и оплодотворение.....	66
2.10.7. Сбор фолликулярной жидкости	68
2.10.8. Морфологическая оценка эмбрионов	68
2.10.9. Перенос эмбрионов в полость матки и ведение посттрансферного периода.....	69
2.10.10. Оценка клинических результатов циклов ВРТ	70
2.10.11. Масс-спектрометрические исследования	70

2.10.11. Изучение полиморфизма генов системы детоксикации	71
2.11. Статистическая обработка полученных данных	71
ГЛАВА 3. Результаты исследования	73
3.1. Клинико-anamnestическая характеристика пациенток, включенных в исследование.	73
3.1.2. Лабораторная характеристика пациенток, включенных в исследование.....	78
3.1.3. Параметры протокола овариальной стимуляции в группах сравнения	79
3.1.4. Характеристика параметров фолликуло-, oo- и раннего эмбриогенеза в группах сравнения.....	80
3.1.5. Клинические результаты циклов ВРТ.....	83
3.2.1. Содержание антропогенных химических веществ в организме пациенток с бесплодием	85
3.2.2. Оценка суммарного уровня поллютантов и разделение пациенток на группы	86
3.2.3. Создание опросника для определения влияния особенностей образа жизни на содержание АХВ в организме пациенток.	88
3.3. Клинико-anamnestическая характеристика пациенток в зависимости от уровня АХВ в крови.....	95
3.4. Характеристика параметров фолликуло-, oo- и раннего эмбриогенеза в зависимости от уровня АХВ	97
3.5. Клинические результаты циклов ВРТ в зависимости от уровня АХВ	99
3.6. Определение бисфенола А в фолликулярной жидкости пациенток	102
3.7. Определение уровня антропогенных химических веществ у мужчин	103
3.8. Полиморфизм генов системы детоксикации	109
3.8.1 Полиморфизм генов детоксикации и тяжелые металлы	109
3.8.2. Полиморфизм генов детоксикации и органические соединения.....	112
Глава 4. Современные подходы к назначению антиоксидантов при бесплодии.....	119
4.1.1. Антиоксидантная терапия: клинико-anamnestические и лабораторные характеристики пациенток, включенных в исследование	120
4.1.2. Динамика содержания АХВ в организме пациенток в зависимости от проведения антиоксидантной терапии	123
4.1.3. Параметры оогенеза и раннего эмбриогенеза в зависимости от назначения антиоксидантной терапии	125
4.1.4. Результаты циклов ВРТ в группах сравнения	126
4.2.1. Ассоциация между уровнем витамина Д в крови пациенток, полиморфизмом гена рецептора витамина Д и содержания АХВ в организме пациенток.....	127
4.2.2. Ассоциация между уровнем АХВ и уровнем витамина Д	130
4.2.3. Эффективность профилактического приема витамина Д.... Ошибка! Залка не определена.	
Обсуждение полученных результатов.....	133
Выводы.....	157
Практические рекомендации.....	160

Список сокращений	162
Список литературы	165
Приложение	198

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Основным фактором, определяющим эффективность лечения бесплодия методом вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), является качество гамет – сперматозоидов и ооцитов.

Роль генетических факторов в снижении качества как женских, так и мужских половых клеток, изучена во многих исследованиях [1, 2]. При этом влияние факторов внешней среды на фертильность человека, прежде всего на качество гамет, является перспективной и малоизученной областью репродуктивной медицины.

При этом репродуктивная система человека уязвима к воздействию антропогенных химических веществ (АХВ). Во-первых, многие АХВ являются *эндокринными разрушителями*, т.е. могут изменять действие различных гормонов, которые регулируют функцию репродуктивной системы. Во-вторых, возможно прямое повреждение репродуктивных тканей. В-третьих, АХВ негативно влияют на митотическое, и особенно мейотическое деление, приводя к нарушению оогенеза, сперматогенеза, и раннего эмбрионального развития [3–6]. По данным различных исследований, повышенное содержание АХВ ассоциировано с нарушениями менструального цикла [7, 8], снижением эффективности циклов ВРТ [6, 9], повышенным риском невынашивания беременности [10], задержки роста плода [11] и врожденных аномалий развития [8].

Основным механизмом нейтрализации токсических веществ являются ферменты системы детоксикации. К генам детоксикации относят гены семейства глутатион-S-трансферазы (*GST: GSTT1, GSTM1, GSTP1*) и глутатион пероксидазы (*GPX1*), супероксид дисмутазы (*SOD2, SOD3*), различные трансферазы (например, N-ацетилтрансфераза 2 - *NAT2* и сульфотрансфераза 1A1 - *SULT1A1*) и гидролазы (например, эпоксид

гидролаза1 - *EPHX1*), цитохромы (например, цитохром P450 - *CYP1A1*). Несмотря на то, что система детоксикации определяет восприимчивость организма к различным экзогенным воздействиям, роль полиморфизма генов системы детоксикации в исходах программ ВРТ достоверно не определена. При этом сочетанное воздействие повышенных концентраций АХВ и аллельных вариантов генов детоксикации, предрасполагающих к накоплению данных веществ, может оказывать негативное воздействие, что продемонстрировано на модели развития аллергических, легочных и сердечно-сосудистых заболеваний [12–14].

Помимо эндогенных антиоксидантов, в организме человека присутствуют экзогенные антиоксиданты, которые в основном поступают с пищей. По данным литературы, количество поступающих в организм экзогенных антиоксидантов и витаминов может быть недостаточно для женщины на этапе планирования беременности. На сегодняшний день отсутствуют клинические рекомендации по назначению антиоксидантов женщинам на этапе прегравидарной подготовки, а также женщинам в программах ВРТ [15].

Использование неспецифической детоксикационной терапии является перспективным методом подготовки к программам ВРТ, а наибольшие преимущества от проведения терапии предполагаются в подгруппах пациенток с повышенной экспозицией к АХВ, а также пациенток с неблагоприятными аллельными состояниями генов детоксикации. Поэтому изучение эффективности детоксикационной терапии у женщин в программах ВРТ является важной и актуальной задачей.

Ассоциация между антропогенным загрязнением и метаболизмом витамина Д в организме человека изучается несколькими научными группами [16, 17]. Предполагается, что повышенное содержание АХВ может увеличивать риск недостаточности и дефицита витамина Д, однако на сегодняшний день данный вопрос изучен недостаточно.

Цель исследования

Оптимизация прегравидарной подготовки на основании изучения генетических особенностей системы детоксикации, уровня антропогенных химических веществ и эффективности мер по снижению антропогенной химической нагрузки, на модели пациенток с бесплодием в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Задачи исследования

1. Выявить факторы риска повышенной экспозиции к антропогенным химическим веществам (АХВ) у пациенток с бесплодием на основании анкетирования.

2. Оценить содержание некоторых АХВ (свинца, кадмия, ртути, стирола в крови, бисфенола А (БФА) в крови и фолликулярной жидкости) у пациенток, проходящих лечение в программах ВРТ, и выявить взаимосвязь между уровнем данных АХВ и показателями оогенеза с учетом клинико-лабораторных данных пациенток.

3. Оценить содержание стирола и БФА в крови партнеров пациенток, проходящих лечение в программах ВРТ, и выявить взаимосвязь между уровнем данных АХВ и показателями спермограммы с учетом клинико-лабораторных данных пациентов.

4. Изучить связь между уровнем АХВ в организме женщин и полиморфными вариантами генов системы детоксикации.

5. Проанализировать результаты программ ВРТ (показатели раннего эмбриогенеза, частоту наступления беременности, выкидыша, родов живым плодом) в зависимости от клинико-anamnestических, лабораторных, эмбриологических данных, а также уровня АХВ в организме пациенток и генотипа системы детоксикации.

6. Оценить репродуктивные исходы у пациентов с бесплодием при модификации образа жизни на основании повторного анкетирования.

7. Оценить исходы программ ВРТ у пациенток с бесплодием при назначении препаратов с антиоксидантным действием (полиненасыщенные жирные кислоты, коэнзим Q10).

8. Оценить исходы программ ВРТ у пациенток с бесплодием в зависимости от уровня витамина Д в крови с учетом полиморфизма гена рецептора витамина Д и содержанием АХВ в организме пациенток.

9. Разработать алгоритм по дифференцированной прегравидарной подготовке с учетом факторов риска экспозиции к АХВ, уровня АХВ и генотипа системы детоксикации.

Научная новизна

В ходе проведения исследования были получены следующие новые знания:

В ходе проведения исследования были получены следующие новые знания:

- Разработана анкета, на основании которой определены факторы риска экспозиции к АХВ.

- Проведено исследование содержания АХВ в организме пациентов с бесплодием в программах ВРТ.

- Установлено негативное влияние повышенного содержания АХВ на качество гамет, эмбрионов и результаты программ ВРТ.

- Определена роль генетических особенностей системы детоксикации в накоплении АХВ в организме пациенток и результаты программ ВРТ.

- Изучена связь между содержанием АХВ и уровнем витамина Д у пациенток с бесплодием.

- Проведена оценка репродуктивных исходов при модификации образа жизни, направленной на снижение антропогенной химической нагрузки.

• Проанализирована эффективность назначения препаратов с антиоксидантным эффектом на прегравидарном этапе у пациенток с бесплодием.

Практическая значимость

Создана шкала экспозиции АХВ на модели пациенток с бесплодием.

Выявлены факторы риска повышенной экспозиции АХВ у пациенток с бесплодием.

Проведена оценка влияния модификации образа жизни, направленного на снижение антропогенной химической нагрузки, на результаты программ ВРТ.

Определены аллельные варианты генов детоксикации, предрасполагающие к накоплению различных АХВ в организме пациенток.

Патогенетически обосновано назначение препаратов с антиоксидантным действием на этапе прегравидарной подготовки.

Создан алгоритм прегравидарной подготовки на основании изученных факторов риска, определения уровня АХВ и молекулярно-генетических особенностей пациенток.

Положения, выносимые на защиту

1. Повышенная антропогенная нагрузка увеличивает риск негативных исходов программ ВРТ: частота выкидыша увеличивается в 1,6 раза, частота наступления беременности снижается в 1,4 раза, а частота родов – в 1,5 раза. Содержание АХВ определяется особенностями образа жизни пациенток, в первую очередь, особенностями питания.

2. Накопление АХВ в организме зависит от аллельных сочетаний генов системы детоксикации. Содержание в организме тяжелых металлов увеличивается при наличии делеции гена *GSTT1*, отсутствии аллеля G гена *GSTP1*, наличии аллеля T гена *CYP1A1*, отсутствии аллеля A гена *SULT1A1*. Содержание в организме органических веществ увеличивается при наличии

делеции гена *GSM*, наличии аллеля G гена *NAT2* и аллеля C гена *GSTP1*, отсутствии аллеля C гена *SOD* и аллеля A гена *SULT1A1*. Сочетанное воздействие повышенного уровня антропогенных химических веществ и генетических особенностей системы детоксикации снижает вероятность наступления беременности за счет снижения качества эмбрионов.

3. Модификация образа жизни, направленная на снижение экспозиции к АХВ, улучшает репродуктивные исходы у пациенток с бесплодием. На прегравидарном этапе модификация образа жизни совместно с назначением препаратов с антиоксидантным действием по сравнению только с назначением препаратов с антиоксидантным действием увеличивает частоту наступления беременности на 7,2%, по сравнению с отсутствием каких-либо назначений - на 23,2%.

4. Применение препаратов с антиоксидантным действием на прегравидарном этапе у пациенток с бесплодием улучшает результаты программ ВРТ: частота наступления беременности увеличивается в 1,6 раза, частота родов – в 1,8 раза. Для достижения 1 случая наступления беременности в программах ВРТ препараты с антиоксидантным действием должны получить 9 пациенток.

Личный вклад автора

Автор участвовал в выборе темы научной работы, разработке цели и задач исследования, в проведении и интерпретации результатов масс-спектрометрических и молекулярно-генетических результатов, в обобщении и статистической обработке полученных данных. Автором лично осуществлялось обследование и ведение супружеских пар на всех этапах лечения бесплодия методом ВРТ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1,3, 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация результатов

Основные положения работы доложены на XVIII Всероссийском форуме «Мать и дитя» (Москва, 2017), XIX Всероссийском форуме «Мать и дитя» (Москва, 2018), XXI Всероссийском форуме «Мать и дитя» (Москва, 2020), XXII Всероссийском форуме «Мать и дитя» (Москва, 2021), XIV Региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2021), XXXI Международной конференции РАРЧ (Сочи, 2021), Научно-практическом конгрессе «Гинекологическая эндокринология в возрастном аспекте: проблемы и решения» (Москва, 2021), XXVII Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 2021).

Работа доложена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России 16 мая 2022 года.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в практической работе отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия (заведующий д.м.н., профессор Калинина Е. А.) и лаборатории молекулярно-генетических методов (заведующий к.м.н. Донников А. Е.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор академик РАН

Сухих Г.Т.). Материалы и результаты исследования включены в лекции и практические занятия для клинических ординаторов и аспирантов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Результаты исследования изложены в 20 печатных работах, из которых 10 оригинальных статей напечатаны в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК: «Акушерство и гинекология» (импакт-фактор 0,868), «Гинекология» (импакт-фактор 0,426), «Проблемы репродукции» (импакт-фактор 0,305), «Медицинский совет», «Вестник РГМУ» (импакт-фактор 0,499).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме. Состоит из оглавления, списка принятых сокращений, введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа представлена на 214 страницах машинописного текста, иллюстрирована 10 рисунками и 28 таблицами. Библиографический указатель включает 25 работ на русском языке и 292 работы на английском языке.

Глава 1. Влияние антропогенных химических веществ на репродукцию у человека.

1.1. Бесплодие как медико-социальная проблема XXI века

Бесплодие – это заболевание, характеризующееся невозможностью достичь клинической беременности после 12 месяцев регулярной половой жизни без контрацепции вследствие нарушения способности субъекта к репродукции, либо индивидуальной, либо совместно с его/ее партнером [18].

Бесплодие затрагивает миллионы людей репродуктивного возраста во всем мире – и оказывает влияние не только на их семьи, но и на общество в целом. Бесплодием может быть первичным, когда в анамнезе пациентки не было ни одной беременности, или вторичным, когда в анамнезе была зарегистрирована хотя бы одна беременность. Причиной бесплодия могут служить различные заболевания женской или мужской репродуктивной системы, а в ряде случаев причину бесплодия определить не удастся.

Бесплодие является глобальной проблемой современной системы здравоохранения. По различным данным, от 48 до 80 миллионов супружеских пар репродуктивного возраста в мире не могут достичь желанной беременности [19]. Потребность в методах ВРТ также имеет тенденцию к увеличению в последние десятилетия. К примеру, число циклов ВРТ в Российской Федерации увеличилось с 6 тысяч в 2000 году до 145 тысяч в 2018 году [20]. В 2018 году в России был проведен миллионный цикл ВРТ. При этом эффективность циклов ВРТ остается стабильной и не имеет тенденции к повышению. Наиболее четко снижение фертильности человека можно проследить на примере исследования качества спермы: популяционные исследования демонстрируют негативные изменения в показателях концентрации и подвижности сперматозоидов [21, 22]. Тенденция к повышению частоты бесплодия и увеличению времени до наступления беременности связана со снижением фертильности как у мужчин, так и у женщин [4, 23, 24].

В качестве причин снижения фертильности рассматриваются социальные причины и внешние факторы: высокая распространенность хронических заболеваний и метаболических нарушений у молодых людей, изменения репродуктивного поведения (в основном, откладывание деторождения на поздний репродуктивный возраст) [25], снижение двигательной активности [26, 27], низкое качество пищи [28, 29] и высокая частота вредных привычек [30, 31], негативные изменения внешней среды [4, 32]. Поскольку часть из вышеперечисленных факторов является модифицируемой, их влиянию на репродуктивное здоровье уделяется большое внимание.

Ожирение у женщин является доказанным фактором риска бесплодия. Распространенность ожирения в мире неуклонно увеличивается: по данным ВОЗ, с 1975 по 2016 год число людей, страдающих ожирением, выросло более чем втрое [33, 34]. В 2016 году около 13% взрослого населения в мире (11% мужчин и 15% женщин) страдали ожирением; по прогнозам эпидемиологов, если сохранятся существующие тренды, то к 2030 году 38% взрослых будут иметь избыточную массу тела, а еще 20% - ожирение [35]. Ожирение имеет четкую связь с нарушениями менструального цикла и олиго-/ановуляцией, кроме того, существуют данные о влиянии метаболических нарушений на частоту патологии эндометрия, ранних репродуктивных потерь [36, 37]. Механизмы негативного влияния ожирения на женскую репродуктивную систему многообразны: нарушаются процессы фолликуло- и оогенеза, финального созревания ооцита, изменяется работа митохондрий, повышается риск ошибок мейотического деления [38]. Кроме того, избыток свободных жирных кислот может оказывать токсическое действие на репродуктивные ткани, вызывая хроническое асептическое воспаление [32]. Ожирение повышает риск акушерских осложнений, в том числе гестационного сахарного диабета [39–41], преэклампсии [42–44] и гестационной артериальной гипертензии [39, 45, 46], повышает вероятность оперативного родоразрешения и осложняет анестезиологическое пособие [47].

Дефицит массы тела также ассоциирован с повышенным риском репродуктивных нарушений. Распространенность дефицита массы тела у взрослых значительно ниже, по сравнению с избыточной массой тела, однако в структуре взрослого населения с дефицитом массы тела преобладают женщины репродуктивного возраста (в основном, младшего репродуктивного возраста, от 18 до 35 лет) [34, 48, 49]. Основным патофизиологическим механизмом бесплодия у женщин с дефицитом массы тела является дисфункция гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, что приводит к развитию гипоталамической ановуляции [48]. По данным различных авторов, недостаток массы тела повышает риск эктопической беременности (как в циклах ВРТ, так и при самостоятельном зачатии) [50, 51], самопроизвольного выкидыша в первом триместре [52] и преждевременных родов [53]. По другим данным, дефицит массы тела не связан с повышенным риском акушерских осложнений [54].

Малоподвижный образ жизни, снижение двигательной активности также являются негативными факторами. По данным ученых из Палестины, женщины, ведущий сидячий образ жизни (т.е. проводящие минимум 5 часов в сутки в сидячем положении), сталкиваются с бесплодием в 2,3 раза чаще, чем женщины, ведущие активный образ жизни [55]. Королевский колледж Акушерства и Гинекологии (англ. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists) рекомендует поддерживать достаточную физическую активность даже при беременности: рекомендуется проводить не менее 2 силовых тренировок и не менее 150 минут средней двигательной активности в неделю [32]. В 2020 году опубликован систематический обзор и мета-анализ, включающий 18 исследований, в котором оценили влияние физических упражнений на различные аспекты фертильности человека. По данным мета-анализа, регулярные физические упражнения повышают частоту наступления беременности у пациенток с репродуктивными нарушениями, а для пациенток с олиго/ановуляцией данный вид терапии по эффективности сравним с медикаментозной индукцией овуляции [27]. Однако авторы отмечают низкое

качество доказательной базы, связанное с гетерогенностью исследований, отобранных для мета-анализа. Кроме того, остается открытым вопрос по рекомендованному режиму физических нагрузок: виду упражнений, их продолжительности и кратности.

Принципы здорового питания включают в себя достаточную калорийность рациона, правильное соотношение между белками, жирами и углеводами, а также достаточное количество фолиевой кислоты и микроэлементов. Многие исследования подчеркивают позитивную роль здорового питания в снижении частоты бесплодия и повышении эффективности ВРТ, однако низкое качество пищи и несбалансированный рацион также являются актуальной современной проблемой, особенно для жителей крупных городов [28]. Группа исследователей из Южной Кореи проанализировали особенности питания у 2143 женщин, живущих в США. По данным исследования, женщины, которые регулярно покупали готовую еду (фаст-фуд, полуфабрикаты или замороженные продукты), сталкивались с проблемой бесплодия в 2,7 раз чаще, чем женщины, которые готовили себе еду самостоятельно [56].

Влиянию курения, употребления алкоголя и наркотических средств на женскую фертильность также уделяется много внимания в научном сообществе. Негативное влияние курения на репродуктивную систему не вызывает сомнений, несмотря на то, что большинство доказательств были получены из ретроспективных исследований [57–59]. Патогенетические механизмы влияния курения на репродуктивную систему многообразны: возможно прямое токсическое действие на репродуктивные ткани, повреждение гаметогенеза, а также изменение синтеза стероидных гормонов [58]. Курение ассоциировано с более ранней менопаузой (в среднем на 1-4 года) по данным популяционных исследований [57, 60, 61]. Химические вещества, содержащиеся в сигаретном дыме, ускоряют атрезию фолликулов [62]. Средний уровень базального ФСГ выше у молодых курящих женщин, по сравнению с некурящими [57]. Курение увеличивает время до наступления

спонтанной беременности [63], снижает частоту наступления беременности в циклах ВРТ [64–66] и повышает риск ранних репродуктивных потерь как при спонтанной беременности, так и после ВРТ [64, 67, 68]. Во всем мире специалисты в области репродуктивной медицины рекомендуют отказ от курения не только беременным пациенткам, но и пациенткам на этапе прегравидарной подготовки.

Обсервационные исследования, в которых проводилась оценка влияния употребления алкоголя на естественную фертильность, демонстрируют спорные результаты. Сложность изучения данной проблемы обусловлена несколькими факторами. В ряде исследований проводили сравнение различных режимов употребления алкоголя (редкое, умеренное, частое употребление), в других исследованиях оценивали только определенный уровень употребления алкоголя (как правило, средний или высокий). Также нужно учитывать неоднородность классификаций дозировки алкоголя – в части исследований использовали граммы в неделю (что может быть сложным для пациенток), в других исследованиях использовали понятие «напиток», что затрудняет определение порогового значения степени и частоты употребления алкоголя. По данным исследования Eggert J. *et al.* (проспективное когортное исследование, проводившееся в Швеции в течение 18 лет), женщины, употребляющие алкоголь в дозе более 140 грамм в неделю, чаще обращались к специалистам по поводу бесплодия (ОР 1,59, 95% ДИ 1,09; 2,31), а также характеризовались более низким паритетом [69]. Аналогичные результаты получили исследователи из Дании: женщины, употреблявшие алкоголь в дозе более 7 напитков в неделю, имели более продолжительный период до достижения беременности [70]. В других исследованиях корреляции между употреблением алкоголя и фертильностью не найдено [71], или повышенный риск репродуктивных нарушений имели только пациентки позднего репродуктивного возраста [72].

Тем не менее, в научной литературе накоплено достаточное количество наблюдений о негативном влиянии алкоголя (вне зависимости от дозы) на

течение беременности, что позволяет рекомендовать пациенткам отказываться от приема алкоголя во время беременности и на этапе прегравидарной подготовки [18]. Пренатальное употребление алкоголя связано с самопроизвольным прерыванием беременности, пренатальной и постнатальной задержкой роста плода, а также с врожденными аномалиями развития [73, 74]. Фетальный алкогольный синдром, возникающий при внутриутробном воздействии алкоголя на плод, является наиболее распространенной причиной ненаследственной умственной отсталости в мире [72].

Наркомания представляет собой серьезную медико-социальную проблему, связанную с широким спектром краткосрочных и долгосрочных, прямых и косвенных воздействий на здоровье человека. Употребление наркотических веществ во время беременности представляет собой высокий риск для здоровья плода и новорожденного [75, 76]. Тем не менее, существует ограниченное число исследований, в которых оценивали влияние наркотических веществ на фертильность, и большинство из них посвящены употреблению марихуаны, которая легализована в ряде стран. В проспективном исследовании Jukic A. *et al.* употребление марихуаны было связано с укорочением фолликулярной фазы и более частыми ановуляторными менструальными циклами [77]. Употребление марихуаны во время беременности ассоциировано с повышенным риском аффективных расстройств и синдрома дефицита внимания у потомства [78]. Пациенты, имеющие зависимость от употребления наркотических веществ, нуждаются в наблюдении профильных специалистов и в комплексном лечении основного заболевания [30].

1.2. Антропогенные химические вещества: определение, классификация, общие данные

Проблема негативного влияния загрязнения окружающей среды на здоровье человека приобретает все большее значение с каждым годом [79, 80]. Согласно данным ВОЗ, опасные факторы окружающей среды ответственны за четверть всего бремени болезней в мире и более чем за треть болезней среди детей [81]. Повсеместное распространение загрязнителей, их неблагоприятное воздействие на окружающую среду, биотическое сообщество и здоровье человека вызывают обеспокоенность научного сообщества.

Под **загрязнением окружающей среды** (почвы, воздуха, природных вод) понимают качественные и количественные изменения ее составляющих: повышение концентраций характерных для биосферы веществ, содержание биологических компонентов, физических факторов, или внесение новых, не свойственных компонентов, оказывающих неблагоприятное воздействие на экосистемы и здоровье человека [82]. Наиболее часто количественные и качественные изменения происходят одновременно.

Существуют различные классификации загрязнителей, часть из них перечислена ниже [82]:

1. По природе загрязнителей:
 - ❖ Химические;
 - ❖ Физические;
 - ❖ Биологические;
 - ❖ Механические;
2. По физическому состоянию загрязнителей:
 - ❖ Твердые;
 - ❖ Жидкие;
 - ❖ Газообразные;
3. По масштабам распространения:
 - ❖ Местные;

- ❖ Региональные;
- ❖ Глобальные;
- 4. По степени устойчивости в среде:
 - ❖ Быстроразлагаемые;
 - ❖ Среднеразлагаемые;
 - ❖ Медленноразлагаемые.

С точки зрения влияния на репродуктивное здоровье человека, наиболее важные значения имеют вещества, попадающие в биосферу в результате различных аспектов жизнедеятельности человека, или **антропогенные химические вещества (АХВ)**. В профессиональной литературе также часто используют термины ксенобиотики (греч. *xenos* – чужой), или поллютанты; в контексте обсуждения влияния на здоровье человека данные термины можно считать синонимами.

В результате промышленного прогресса XX и начала XXI веков в окружающую среду попадают инородные вещества, для которых в биосфере не предусмотрены механизмы их выведения из экосферы. При совместном попадании в окружающую среду вещества могут вступать в химические реакции, в результате чего продуцируются продукты более токсичные, по сравнению с исходными веществами. Характерным примером является *фотохимический смог*: под воздействием ультрафиолета оксиды азота и углеводороды вступают между собой в фотохимические реакции, в результате продуцируются пероксиацетилнитриты (ПАН), альдегиды, кетоны и другие химические вещества, загрязняющие воздух [83, 84].

С целью нормирования загрязнений в компонентах биосферы (вода/воздух/почва) разработана концепция **предельно допустимых концентраций (ПДК)** [85]. Под ПДК понимают максимальные концентрации определенного вещества в определенном компоненте биосферы, которые не наносят вреда здоровью человека (в настоящем и будущем, в том числе для

будущих поколений) и не приводят к неблагоприятным изменениям окружающей среды.

В 1980 году в США был принят Закон о комплексных экологических мерах, компенсациях и ответственности (англ. CERCLA-Comprehensive Environmental Response, Compensation and Liability Act) [86]. Один из разделов данного закона обязывает агентство по охране окружающей среды (англ. EPA-Environmental Protection Agency) публиковать список веществ, которые широко распространены в окружающей среде, и которые определены как представляющие потенциальную угрозу для здоровья человека вследствие известной или предполагаемой токсичности. CERCLA также требует, чтобы данный список подвергался регулярному пересмотру, чтобы отражать динамическую информацию об опасных веществах. Список данных веществ носит название *приоритетный список токсикантов* (англ. ATSDR's Substance Priority List, ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry) [87].

В настоящее время этот список пересматривается и публикуется каждые 2 года, с ежегодным неофициальным обзором и пересмотром. Каждое вещество в списке является кандидатом на включение в токсикологический профиль, подготовленный агентством по изучению токсикантов и регистрации заболеваний. Каждому веществу присваивается определенный балл, на основании количества баллов определяется приоритет. Таким образом, алгоритм составления списка учитывает распространенность веществ, токсичность и возможное воздействие на человека. Последний официальный список был опубликован в 2019 году, он включает в себя 275 веществ, первые 10 мест в порядке убывания: мышьяк, свинец, ртуть, хлористый винил, полихлорированные бифенилы, бензол, кадмий, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ, к которым относится бенз(а)пирен, нафталин, трифенелен и т.д.), бензофлуорантен [88]. Свинец и кадмий присутствуют в данном списке в течение многих лет.

В Российской Федерации список токсических химических веществ, их ПДК в компонентах биосферы, а также гигиенически нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды, регламентированы на законодательном уровне [89].

В 1962 году была опубликована книга американского биолога Рейчел Карсон под названием Безмолвная Весна (англ. Silent Spring). Основной темой книги было негативное влияние токсикантов на окружающую среду; в качестве примера автор приводила резкое снижение популяции американских бурых пеликанов в 1950-1960 г. в результате применения ДДТ (Дихлордифенилтрихлорэтан, инсектицид и пестицид). Карсон обвиняла химические компании в сокрытии информации о реальном воздействии пестицидов, а политиков – в разрешении на использование химикатов при отсутствии достаточного числа независимых исследований. В течение нескольких десятилетий до этого ДДТ использовался во всем мире для борьбы с эпидемиями малярии и тифа и для сохранения урожая. Достоинствами ДДТ были высокая эффективность, низкая стоимость, простота получения и высокая химическая стабильность, и в 1948 году швейцарский химик Пауль Мюллер был удостоен Нобелевской премии по медицине «За открытие высокой эффективности ДДТ как контактного яда». Более поздние исследования подтвердили негативное влияние ДДТ на репродуктивную систему человека и животных за счет влияния на рецепторы к эстрогенам. В 1970 году ДДТ был запрещен для использования в большинстве стран мира, однако благодаря высокой химической стабильности данное вещество широко распространено в окружающей среде. ДДТ был выявлен в Антарктиде, хотя на территории данного континента инсектициды никогда не использовались.

Все эти негативные события сформировали новое научное направление – изучение *эндокринных разрушителей* (англ. endocrine disruptors). Особенностью данных веществ является неспецифическое воздействие на эндокринную систему, отсутствие четкого дозозависимого эффекта, а также возможность эпигенетического воздействия [90, 91], именно поэтому

эндокринные разрушители большинство ученых выделяют как отдельный класс поллютантов [92, 93]. Американское общество эндокринологов (англ. Endocrine Society) определяет эндокринный разрушитель как “экзогенное [не природное] химическое вещество (или смесь химических веществ), которое влияет на любой аспект действия гормонов” [94]. Единой классификации эндокринных разрушителей не существует. Наиболее хорошо изученными веществами являются бисфенолы (бисфенол А, бисфенол С и другие).

В 2010 году в результате проведения 5-й конференции Европейского регионального бюро Всемирной организации здравоохранения была принята Пармская декларация, которая призывает европейские страны усилить меры по защите детей и беременных женщин от воздействия факторов окружающей среды: мутагенов, репродуктивных токсикантов и эндокринных разрушителей [95].

1.2.1. Тяжелые металлы

Тяжелые металлы используются в хозяйственной деятельности человека в течение многих лет. Тяжелые металлы обладают не только высокой устойчивостью к химическому разложению, но и способны биоаккумулироваться и биоусиливаться в компонентах пищевой цепи [96]. Для тяжелых металлов характерны широкая распространенность, токсичность, длительный период полувыведения и способность проникать через гистогематические барьеры. Тяжелые металлы могут проникать в организм человека через желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, трансдермально, а также трансплацентарно и с грудным молоком [97–100].

Существует несколько химических классификаций тяжелых металлов [101, 102], основанных на удельной плотности, относительной атомной массе, и/или плотности металла. Однако с медицинской точки зрения, основное значение имеют его *распространенность* (объем использования в промышленности), *биологическая активность* и *токсичность*. С точки зрения

вреда здоровью человека, наибольшего внимания заслуживают **свинец, ртуть и кадмий**.

Свинец используется в металлургии, для производства красок и других строительных материалов, инсектицидов, взрывчатых веществ. Также свинец может выделяться при сжигании мусора. Основными источниками попадания в организм человека свинца являются воздух и пищевые продукты, примерно в равных долях. Дети более восприимчивы к свинцу, чем взрослые [100, 103, 104]. В течение нескольких десятилетий соединения свинца добавляли в топливо для повышения октанового числа (т.н. этилирование бензина), что вызвало значительное загрязнение атмосферного воздуха данным веществом. В настоящее время этилирование бензина запрещено в большинстве стран мира [105].

В организме человека свинец накапливается в паренхиматозных органах (печень, почки), в костях, в центральной нервной системе. Период выведения составляет от 10 до 25 лет. Выделение свинца состоит из двух фаз: первая фаза включает в себя выведение из крови и паренхиматозных органов, вторая фаза включает в себя выведение из костной ткани. Период полувыведения из крови и паренхиматозных органов составляет около 30 дней, из губчатой костной ткани – около 12 месяцев, из компактной костной ткани – около 10-20 лет; таким образом, свинец аккумулируется в организме человека в течение нескольких десятилетий [106]. Существуют данные, что уровень свинца крови повышается с возрастом человека, что, возможно, связано с медленным высвобождением свинца из костей; повышенное содержание свинца в костной ткани имеет четкую связь с возрастом человека [106].

Свинец особенно токсичен для детей (от 0 до 6 лет), что связано с быстрым ростом и развитием центральной нервной системы и соответствующими периодами повышенной уязвимости [107, 108]. Воздействие свинца на детей приводит к снижению способности к обучению, снижению памяти, коэффициента интеллекта. Специфическое заболевание, связанное с отравлением свинцом, носит название *сатурнизм*. Сатурнизм

более характерен для детей, чем для взрослых. Клиническими проявлениями сатурнизма являются анемия, энцефалопатия, почечная недостаточность, паралич и смерть.

Именно с сатурнизмом связывают трагические события 19 века, когда свинец широко использовали для производства консервных банок, а данных о его негативном влиянии на организм было недостаточно. В данный период времени мясо в жестяных консервных банках являлось основой рациона путешественников в труднодоступные районы. В 2008 году антропологи подтвердили высокий уровень свинца в телах норвежских охотников, которые вынужденно зимовали на архипелаге Шпицберген в 1872 году и погибли в течение нескольких недель изоляции [109]. Отравление свинцом является вероятной причиной гибели участников британской арктической экспедиции Джона Франклина 1845—1848 годов, а по мнению норвежских антропологов – и других необъяснимых смертей в арктическом климате [103].

Повышенная экспозиция к свинцу при современном образе жизни может быть связана с курением, неправильным питанием и систематическим приемом алкоголя. Польские ученые проанализировали содержание металлов (кадмий, хром, никель, свинец и цинк) в образцах эндометрия пациенток, которые обращались для проведения гистероскопии перед подготовкой к ВРТ. Во-первых, у курящих пациенток уровень свинца и кадмия в эндометрии был выше, чем у пациенток, которые не курили. Во-вторых, уровень данных металлов в эндометрии был в 2 раза выше в случае аномальной гистологической картины (внутриматочные синехии, полипы эндометрия, гиперплазия эндометрия) [110]. Авторы данного исследования высказали предположение, что эндометрий может быть потенциальной мишенью для накопления металлов в организме. Известно, что содержание свинца в организме повышается в случае дефицита железа и других микроэлементов, что связано с повышенной адсорбцией данного металла в желудочно-кишечном тракте [111]. Предполагаемым механизмом является повышенное связывание свинца с транспортными белками в условиях сниженной

железосвязывающей способности сыворотки. Дефицит кальция усиливает также отложение свинца в костной ткани [112].

В исследовании Tanrikut E. *et al.* обнаружение свинца и кадмия в биоптате эндометрия было статистически значимо связано с бесплодием неясного генеза: кадмий выявлен у 91% женщин с бесплодием неясного генеза и только у 34% фертильных пациенток. Свинец выявлен у 15% пациенток с бесплодием и у 3% фертильных пациенток, при этом средние концентрации металлов также были значимо выше в экспериментальной группе [113].

Воздействие свинца на мужскую репродуктивную систему заключается в подавлении синтеза стероидных гормонов, а также в снижении качества эякулята: показано негативное влияние на концентрацию, подвижность, морфологию сперматозоидов [9, 114].

Кадмий используется как компонент легкоплавких сплавов (для повышения температуры их плавления), а также в производстве аккумуляторов, антикоррозионных покрытий, красящих веществ.

Все соединения кадмия токсичны. Основными мишенями негативного воздействия кадмия в организме человека являются почки, дыхательные пути и кости; кадмий является известным канцерогеном. Кадмий может перемещаться на большие расстояния от источника выброса за счет воздушного транспорта. Загрязнение почвы сточными водами, удобрениями, выбросами автотранспорта может приводить к накоплению кадмия в корнях растений (чаще злаковые растения) и грибах. Также кадмий может аккумулироваться в организмах животных: в моллюсках и в печени рыб. В организм человека кадмий попадает преимущественно ингаляционно (особенно при активном и пассивном курении), а также при употреблении контаминированной пищи [115].

Отравление солями кадмия является причиной болезни *итай-итай*, зарегистрированной в префектуре Тояма (Япония) в начале 20 века. Повышение добычи ископаемых ресурсов горно-металлургическими компаниями привело к загрязнению бассейна реки Дзиндзу. Воды реки

активно использовались для орошения рисовых полей, хозяйственных нужд, а также для рыбной ловли, результатом явилось хроническое отравление кадмием сельского населения. Симптомами болезни итай-итай были острые боли в суставах и позвоночнике, хроническая почечная недостаточность, остеомалация и часто ранняя смерть; наиболее уязвимы к воздействию кадмия были беременные женщины и пожилые люди. Установить причину развития болезни удалось только через 40 лет после появления данных о первых заболевших, а устранить загрязнение почвы (рекультивация+создание водопроводной сети) – только через 100 лет – в 2012 году [116].

Данные о влиянии кадмия на репродуктивную систему человека дискуссионны. Популяционные исследования демонстрируют, что уровень кадмия у женщин выше, чем у мужчин, а также уровень кадмия выше у нерожавших женщин, у курящих женщин и у женщин с поздней менопаузой [117]. Связь между кадмием и половыми гормонами изучалась в различных работах, однако данный вопрос требует уточнения [118, 119].

Повышенный уровень кадмия связан с поздним менархе и задержкой полового развития у девочек [120], что, вероятно, является следствием нарушения синтеза стероидных гормонов.

В нескольких исследованиях проанализировано влияние кадмия у матерей на течение беременности и неонатальные исходы. Уровень кадмия в пуповинной крови отрицательно влияет на развитие плода: увеличивается риск рождения маловесного новорожденного [121]. Повышение риска задержки роста плода у матерей с повышенной экспозицией к кадмию связано, вероятнее всего, с токсическим повреждением маточно-плацентарного комплекса [7, 80].

Воздействие кадмия на мужскую репродуктивную систему приводит к нарушению синтеза стероидных гормонов, повышению риска эректильной дисфункции и нарушения сперматогенеза [7, 122, 123].

Ртуть применяется в производстве электронных приборов, металлургии, а также как катализатор в органической химии. Загрязнение биосферы ртутью

связано с антропогенными факторами: сжиганием угля, горнодобывающей промышленностью, производством цемента. Ртуть существует в трех различных химических формах: элементарная, неорганические соединения и органические соединения [124]. Когда ртуть попадает в природную среду и грунтовые воды, происходит биотрансформация металла в другое, более опасное соединение – метилртуть (MeHg).

Попадание ртути в организм человека в основном происходит перорально при употреблении загрязненной рыбы и морепродуктов, реже – при использовании стоматологических пломб, сломанных ртутных термометров и люминесцентных ламп, косметических средств.

Высокая токсичность различных соединений ртути доказана во многих исследованиях, что послужило основанием для рекомендаций Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (англ. Food and Drug Administration, FDA) ограничить употребление в пищу некоторых сортов рыбы (основного источника ртути в пищевых продуктах) беременными и кормящими женщинами [125].

Внимание мирового сообщества к проблеме глобального загрязнения ртутью привело к принятию Конвенции Минамата о ртути (англ. Minamata Convention on Mercury) в 2017 году [126]. Конвенция Минамата – это межгосударственный договор, направленный на защиту окружающей среды и здоровья людей от антропогенного воздействия ртути и ее соединений. Данная конвенция регулирует использование ртути в промышленности. Начиная с 1990-х годов, 1 раз в 3 года проводится международная конференция «Ртуть – поллютант глобального значения» (англ. - Conference on Mercury as a Global Pollutant), которая посвящена вопросам биомониторинга ртути и влиянию ртути на различные аспекты здоровья человека. Токсические свойства ртути известны человечеству с древнейших времен, но современная история изучения ртути началась в середине 20 века с нескольких крупных промышленных катастроф (массовое отравление в Японии, экологическая катастрофа в Канаде, отравление метилртутью в Ираке) [127–129].

Болезнь Минамата – это токсическое нервное заболевание, вызванное употреблением в еду морепродуктов, загрязненных соединениями метилртути, выделенной заводом Минамата (в префектуре Кумамото, Япония). Основные симптомы включают в себя сенсорные нарушения, атаксию, концентрическое сужение поля зрения и слуховые расстройства. При отравлении метилртутью во время беременности ребенок рождается с внутриутробной болезнью Минамата, которая характеризуется более тяжелой клинической картиной. Точное число жертв болезни Минамата остается неизвестным. На сегодняшний день биомониторингу ртути в различных географических областях уделяется большое внимание [130–132].

Изучению влияния ртути на репродуктивную систему посвящено большое число исследований и систематический обзор. Повышенная экспозиция ртути ассоциирована с синдромом поликистозных яичников, предменструальным синдромом, дисменореей, гиперпролактинемией, эндометриозом, ранней менопаузой [8].

Исследования показали, что для негативного воздействия на гаметогенез и развитие плода при беременности достаточно воздействия более низких концентраций ртути, чем для взрослого организма. Ртуть может проникать через гематоплацентарный барьер в элементарной форме или в составе органических соединений [133]. Новорожденные также более чувствительны к токсическому воздействию ртути, что обусловлено незрелостью гематоэнцефалического барьера, высокой степенью гастроинтестинальной абсорбции и медленной скоростью почечной экскреции [134].

Крупное популяционное исследование, проведенное в районах проживания русской Арктики (от Кольского полуострова до Чукотки) показали наличие глобальных и региональных источников загрязнения ртутью [135]. Уровни ртути в крови женщин репродуктивного возраста превышали установленные международные нормативные значения. Повышенный уровень ртути у женщин был связан с преждевременными родами, привычным невынашиванием беременности, антенатальной гибелью плода и

врожденными пороками развития новорожденных. По другим данным, уровень ртути в организме женщины ассоциирован с бесплодием неясного генеза [136].

Исследование японских ученых, проведенное среди жителей города Минамата, которые подвергались повышенной экспозиции к ртути в 1950-1960 годах, показало повышенный уровень мертворождений по сравнению с другими регионами [137]. Большинство из мертворожденных плодов были мужского пола, что привело к снижению числа мужчин, рожденных в конце 1950-х годов. Более поздние исследования показали, что повышенный уровень ртути в волосах у мужчин связан с нарушением сперматогенеза – снижением концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов [138, 139].

1.2.2. Органические соединения

Стирол является сырьем для производства разнообразных материалов: полистирольных пластмасс, бутадиенстирольных каучуков, лакокрасочных и клеящих материалов, термоэластопластов, является растворителем полиэфиров и полиэфирных смол. Полимеры стирола широко используются в жидких тонерах для принтеров или копировальных аппаратов. В небольших концентрациях стирол присутствует в некоторых пищевых продуктах (овощи, говядина, специи, яйца), а также в любых продуктах, упакованных с использованием стирол-содержащего пластика. Стирол является компонентом сигаретного дыма и выхлопных газов [140]

Стирол обладает общетоксическим, раздражающим, мутагенным и канцерогенным эффектами. Согласно стандартам качества воздуха ВОЗ, стирол относится ко 2-му классу (высоко опасные). Повышенной экспозиции стирола подвержены работники химической, нефтехимической и деревообрабатывающей промышленности. Первые сообщения о токсичности стирола были опубликованы в 1970-х годах и касались фабричных работников. Основной мишенью для стирола является центральная нервная

система: как острое, так и хроническое отравление стиролом вызывало вестибулярные нарушения, потерю слуха, снижение цветового восприятия, «ощущения опьянения» [141–143].

Несмотря на известные токсические свойства стирола, на сегодняшний день отсутствуют доказательные данные о его влиянии на фертильность пациенток (в том числе риск бесплодия, невынашивания беременности, развития врожденных аномалий у потомства). Это может быть связано с повышенными мерами безопасности и усилением контроля над содержанием стирола в организме у женщин в группе риска [140].

В 1980-х годах было опубликовано исследование, показавшее повышенный риск самопроизвольного прерывания беременности у женщин, работающих на специфическом производстве и имеющих повышенную экспозицию стирола [144]. Однако полученные данные не подтвердились в других, более поздних и более крупных исследованиях [145, 146].

По данным итальянских исследователей, работники химических предприятий имеют повышение уровня фрагментации ДНК сперматозоидов и уровня анеуплоидии в сперматозоидах, при этом показатели спермограммы у мужчин оставались в норме независимо от содержания стирола в организме [147, 148]. Поскольку вышеуказанные нарушения мужской репродуктивной системы являются доказанными факторами риска рождения детей с врожденными аномалиями, данная проблема требует дальнейшего изучения. Другая группа исследователей показала повышенное содержание стирола и других органических веществ в крови и моче мужчин с идиопатическим бесплодием (по сравнению с фертильными мужчинами), а также положительную корреляцию между уровнем данных веществ и маркерами окислительного стресса [149].

Бисфенол А (БФА) – это химическое вещество, которое широко используется в производстве различных продуктов на основе поликарбонатного пластика и эпоксидных смол (в том числе пластиковой посуды и бутылок). Также бисфенол А используется в стоматологии (при

производстве материалов для некоторых видов пломб), в консервной промышленности (им выстилают внутреннюю поверхность жестяных консервных банок), для производства термобумаги (кассовые чеки и т.д.). Основным источником попадания БФА в организм человека – алиментарный. Фактически, БФА попадает в пищевые продукты из пластиковой посуды или упаковки; в основном контаминация пищи бисфенолом А происходит при нагревании пластика [150]. Также возможен трансдермальный путь попадания, который осуществляется при контакте с термобумагой (кассовые чеки, транспортные билеты) или с кожными антисептиками, содержащими БФА [150]. Далее БФА абсорбируется в желудочно-кишечном тракте, метаболизируется в печени и выводится в основном с мочой [150].

Биохимические исследования показали, что бисфенол А имитирует действие эстрадиола, связываясь как с рецепторами ER- α , так и с ER- β , причем аффинность к ER- β значительно выше [151]. Также бисфенол А обладает антиандрогенной активностью, мутагенностью, может оказывать эпигенетическое воздействие, что потенциально может приводить к трансгенерационной передаче (т.е. вызывать различные патологии у следующих поколений) [152].

В последние годы появляется все больше доказательств, что БФА негативно влияет на репродуктивную систему человека.

Взаимосвязь между экспозицией БФА и естественной фертильностью была изучена в нескольких обсервационных исследованиях. В исследовании итальянских ученых пациентки, страдающие бесплодием, в 3 раза чаще имели детектируемый уровень БФА в крови (порог определения составил 0,5 мг/мл), чем фертильные пациентки [153]. В более крупном исследовании были получены аналогичные результаты; кроме того, пациентки с бесплодием имели значительно более высокий уровень БФА [150]. Жители крупных городов имели более высокий уровень БФА, чем сельские жители; на основании полученных данных авторы предположили, что особенности образа жизни могут влиять на экспозицию данного вещества. В других

обсервационных исследованиях получены противоположные результаты: в исследовании LIFE (англ. - Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment, проспективное исследование фертильности и окружающей среды) уровень БФА и фталатов в моче женщин не был связан со временем до наступления беременности [154]. Также в исследовании MIREC (англ. - Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals study, исследование антропогенных химических веществ в системе мать-новорожденный) получены данные об ассоциации уровня триклозана, но не БФА и фталатов, со временем до наступления беременности [154]. Следует отметить, что уровни БФА и фталатов в данных исследованиях были значительно ниже, по сравнению с данными национального биомониторинга за аналогичный промежуток времени, что также могло повлиять на полученные результаты [154].

Предполагается, что повышенная экспозиция БФА может негативно влиять на эффективность лечения бесплодия с помощью ВРТ. В исследовании Bloom M. *et al.* уровень БФА в крови пациенток имел отрицательную корреляционную связь с уровнем эстрадиола в день введения триггера овуляции, но не был связан с числом полученных ооцитов или их зрелостью [154]. Авторы высказали предположение, что БФА может нарушать выработку эстрадиола клетками гранулезы. В исследовании Mok-Lin E. *et al.* уровень БФА в моче пациенток имел отрицательную корреляционную связь как с пиковым уровнем эстрадиола, так и с числом полученных ооцитов (после корректировки по возрасту, индексу массы тела и уровню ФСГ пациенток) [154]. Однако в данных работах не изучали клинические исходы ВРТ.

Ehrlich S. *et al.* проанализировав результаты 180 циклов ВРТ, показали, что повышение уровня БФА в организме пациенток ассоциировано со снижением частоты имплантации, при этом частота имплантации снижалась с увеличением квартильного уровня БФА [155]. В исследовании Fujimoto V. *et al.* уровень бисфенола А в организме пациенток имел отрицательную

корреляционную связь с числом зрелых ооцитов и частотой фертилизации, но не с частотой имплантации [156].

В исследовании Forte M. *et al.* изучали воздействие БФА и триклозана на стромальные клетки эндометрия (полученные путем биопсии эндометрия) пациенток с нормальной гистологической структурой эндометрия. Затем были исследованы механизмы пролиферации, клеточного цикла, миграции и децидуализации. Ни триклозан, ни БФА не влияли на пролиферацию клеток. Однако, оба вещества блокировали переход из G2 в M фазу клеточного цикла, способствуя повышению клеточной миграции. Также обнаружено повышение экспрессии генов и уровня соответствующих белков некоторых маркеров децидуализации [156]. Полученные данные авторы считают подтверждением негативного влияния БФА на эндометрий. Аналогичные результаты были получены в исследованиях на моделях животных [156].

В нескольких исследованиях изучали связь между БФА и эндометриозом. По результатам Simonelli A. *et al.* БФА был обнаружен в моче 100% исследуемых пациенток (n=128), при этом уровень данного вещества был значительно выше у пациенток с подтвержденным эндометриозом по сравнению с контрольной группой [156]. В исследовании Itoh H *et al.* уровень БФА в моче не был связан со степенью тяжести наружного генитального эндометриоза, однако недостатком данного исследования является отсутствие контрольной группы пациенток без эндометриоза [156].

Проблема влияния БФА на здоровье детей и подростков также вызывает интерес научного сообщества. В различных исследованиях показано негативное влияние пренатальной и постнатальной экспозиции БФА на риск метаболического синдрома [156], когнитивных нарушений [157–159], артериальной гипертензии [160] и нарушением полового развития [160].

В июне 2011 года Европейский Союз запретил использовать бисфенол А в производстве детской посуды [161], в настоящее время обсуждается вопрос о запрете использования БФА для производства термальной бумаги и детских

игрушек. Также использование БФА для производства детских бутылочек запрещено в Канаде [162].

1.3. Патогенетические механизмы влияния АХВ на репродуктивную систему

Репродуктивная система человека наиболее уязвима для воздействия АХВ. Во-первых, многие АХВ являются *эндокринными разрушителями*, т.е. могут изменять действие различных гормонов, которые регулируют функцию репродуктивной системы. Во-вторых, возможно прямое повреждение репродуктивных тканей. В-третьих, АХВ негативно влияют на митотическое, и особенно редукционное деление, приводя к нарушению оогенеза, сперматогенеза и раннего эмбрионального развития [3–6].

Гаметогенез у человека – это сложный каскад событий, который приводит к формированию зрелых половых клеток, компетентных для оплодотворения и развития эмбриона. Различают оогенез (продукция ооцитов) и сперматогенез (продукция сперматозоидов). В основе гаметогенеза лежит мейоз, или специализированный процесс клеточного деления, который позволяет сформировать половые клетки с гаплоидным хромосомным набором.

У обоих полов основой мейоза служит репликация ДНК в родительской клетке, за которой следуют два цикла деления ядра и клетки, известные как первое деление мейоза (мейоз I) и второе деление мейоза (мейоз II), которые приводят к образованию гаплоидных гамет. Результатом мейотического деления является создание новых генетических комбинаций. В процессе сперматогенеза мейотическое деление клеток происходит постоянно, начиная со времени полового созревания, и затем в течение всей жизни мужчины. В женском организме первое мейотическое деление начинается во время эмбрионального развития – в него вступают примордиальные зародышевые клетки, образовавшиеся в результате митоза (примерно с 20-й недели

гестации), а затем мейоз останавливается на стадии профазы I. В дальнейшем мейотическое деление продолжается только в результате овуляторного пика лютеинизирующего гормона (ЛГ) у девочки, достигшей полового созревания; завершается мейотическое деление в ооцитах только после оплодотворения. Длительный временной интервал между различными этапами мейотического деления в ооцитах – основное различие между оогенезом и сперматогенезом.

Под *качеством гамет* понимают способность ооцитов и сперматозоидов к оплодотворению и формированию нормального эмбриона. Нарушение качества половых клеток связано со снижением фертильности и бесплодием [163]. В клинической практике для оценки качества гамет наиболее часто используется неинвазивный морфологический метод.

Для оценки качества спермы используют руководство ВОЗ [164]. Основными параметрами являются подвижность, жизнеспособность, концентрация и морфология сперматозоидов. Для проведения научных исследований часто используют расширенные показатели: например, митохондриальную активность или тесты, отражающие целостность генома сперматозоидов, такие как конденсация хроматина или фрагментация ДНК сперматозоидов [165, 166]. Конденсация хроматина является фундаментальной частью сперматогенеза, которая делает возможным компактизацию генома сперматозоидов; нарушения компактизации может приводить к отсутствию дробления эмбрионов непосредственно после оплодотворения. Ошибки метилирования в процессе ремоделирования хроматина сперматозоидов оказывают влияние не только на фертильность мужчины, но и на здоровье следующих поколений [166].

Фрагментация ДНК также играет важную роль в этиологии мужского бесплодия; повышение фрагментации в основном происходит вследствие активных форм кислорода (АФК), образующихся в процессе клеточного метаболизма. Низкие уровни АФК необходимы для нормальной функции сперматозоидов (например, для акросомной реакции), однако дисбаланс между редокс-статусом и активностью антиоксидантной системы нарушает

репродуктивную функцию мужчины. В первую очередь повышение фрагментации ДНК сперматозоидов связывают с риском появления мутаций *de novo*, в меньшей степени – с хромосомным набором сперматозоидов [22].

Предполагаемые механизмы влияния поллютантов на качество половых клеток представлены на рисунке 1.

Оценка качества ооцитов представляется более сложной задачей: анализ морфологии ооцитов можно проводить только при проведении программ ВРТ, а проведение инвазивных методов оценки невозможно вследствие ограниченного числа гамет и этических сложностей. В рутинной клинической практике морфологическая оценка ооцитов проводится при проведении интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов: оценивают зрелость ооцита (стадия зародышевого пузырька – GV, метафазы I или метафазы II), а также наличие изменений в цитоплазме или экстрацитоплазматических структурах [167]. Все зрелые ооциты подвергаются оплодотворению, несмотря на наличие или отсутствие морфологических изменений.

Репродуктивная система женщины также чувствительна к воздействию внешних факторов: исследователи формируют подобные выводы на основе результатов исследований на моделях животных [168]. С другой стороны, существуют механизмы защиты репродуктивной системы от внешних воздействий. Например, в ооцитах человека показано наличие многоступенчатой системы репарации ДНК, которая сохраняет целостность генома при воздействии внешних факторов [169].

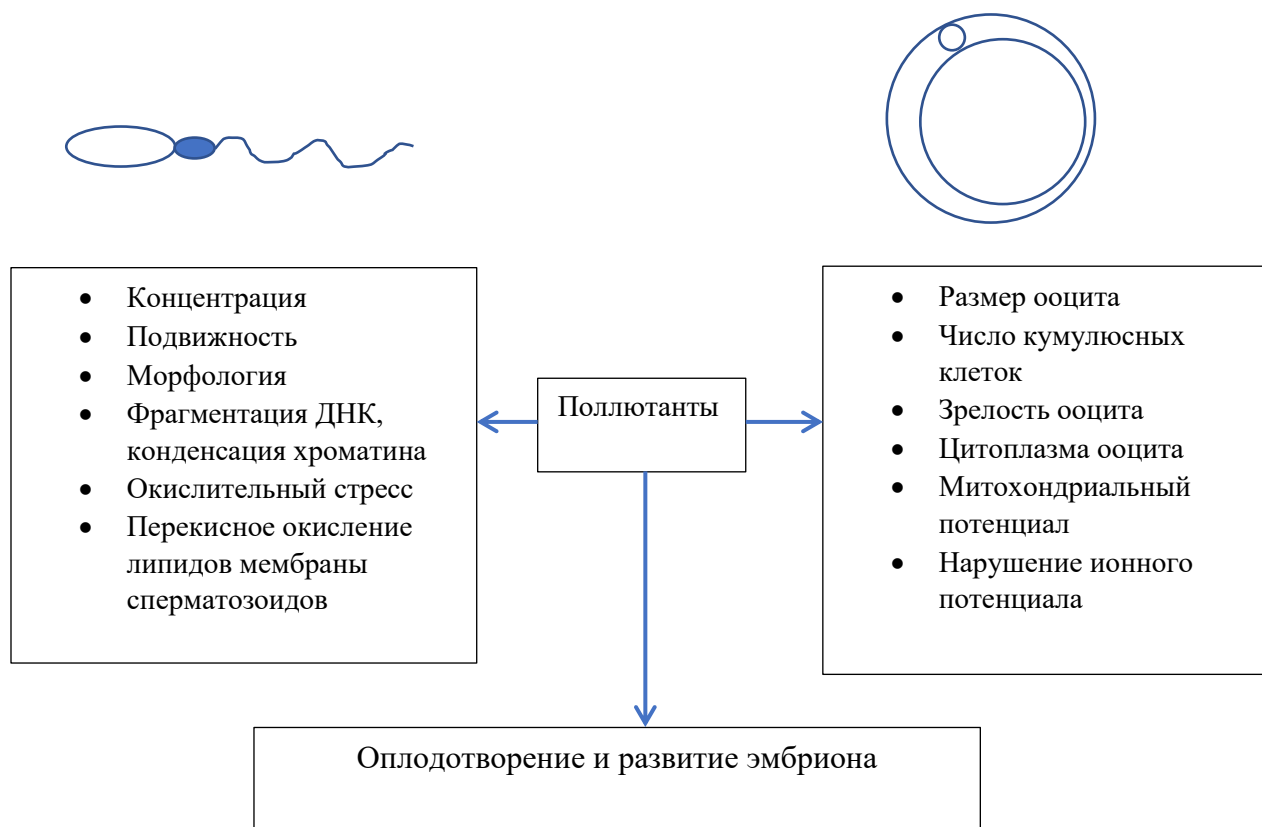


Рисунок 1. Предполагаемые механизмы влияния поллютантов на качество половых клеток

Следующими важными событиями являются *активация гамет* и *оплодотворение*. Активация сперматозоидов *in vivo* – многоступенчатый процесс, который регулируется соматическими клетками, окружающими ооцит (клетки кумулюса). В результате сперматозоид меняет подвижность, притягивается к ооциту, связывается с блестящей оболочкой (лат. - zona pellucida), претерпевает акросомную реакцию и в результате сливается с внутренней, плазматической мембраной ооцита. Следующим этапом является активация ооцита: в результате взаимодействия цитоплазмы ооцита со сперматозоидом происходит возобновление мейотического деления, метаболические изменения в цитоплазме, меняется электронный потенциал, блестящая оболочка становится непроницаемой для других сперматозоидов (что препятствует возникновению полиспермии). Процесс оплодотворения

также чувствителен к внешним воздействиям, что показано в экспериментальных исследованиях [169].

1.4. Генетические аспекты системы детоксикации

Восприимчивость организма к факторам внешней среды также зависит от генетических особенностей: гены ферментов детоксикации характеризуются значительным популяционным полиморфизмом, что в свою очередь приводит к изменению активности антиоксидантных ферментов [170].

Согласно современным представлениям, процесс детоксикации состоит из 3-х основных фаз: **модификация, конъюгация и выведение.**

Фаза 1 (модификация) заключается в том, чтобы преобразовать АХВ в другие формы, для облегчения экскреции, или для облегчения связывания с другими молекулами (что в результате приводит к изменению активности, чаще - снижению). Основная роль в фазе модификации относится системе цитохрома Р-450. Ферменты системы цитохрома Р-450 катализируют различные химические реакции (чаще окислительно-восстановительные или реакции гидролиза), в результате которых к первоначальной молекуле добавляются функциональные группы (например, гидроксильные или карбоксильные), что делает молекулы более растворимыми в воде и более способными к химическим реакциям [171]. Данные реакции могут вызывать окислительное повреждение в клеточных системах из-за образования реактивных электрофильных частиц.

Система цитохрома Р-450 локализована в основном в печени, также ее активность отмечена в легких, почках, энтероцитах [171]. Вариабельность ферментов цитохрома Р-450 определяет восприимчивость организма к экзогенным веществам. Клиническое применение знаний о ферментах фазы I в первую очередь рассматривалось в клинической фармакологии, чтобы понять природу лекарственных взаимодействий, побочных эффектов и индивидуальной вариабельности метаболизма лекарств [172]. Наиболее

хорошо изученной частью суперсемейства цитохром Р450 являются белки СУР1А.

Семейство белков **СУР1А** участвует в метаболизме проканцерогенов, стероидных гормонов и лекарственных средств. Также белки СУР1А участвуют в канцерогенной биоактивации органических соединений: полициклических ароматических углеводов, полихлорированных бифенилов [173, 174]. Вследствие быстрого превращения органических соединений в высокоактивные промежуточные продукты, чрезмерная активность ферментов СУР1А без адекватной поддержки фазы II может усиливать деструктивные эффекты проканцерогенов окружающей среды [175].

Фаза II (конъюгация) заключается в увеличении гидрофильности метаболита, что облегчает его экскрецию. Ферменты II фазы детоксикации расположены во всех тканях организма, наиболее важные ферменты второй фазы относятся к классу трансфераз.

Конъюгация представляет собой реакцию связывания метаболита с гидрофильными соединениями с использованием ферментов. Например, к метаболиту присоединяется глюкуроновая кислота (глюкуронилтрансферазы), сульфат (сульфотрансферазы), глутатион (глутатионтрансферазы), аминокислоты (аминокислотные трансферазы) и т.д. Полиморфные варианты генов II фазы влияют на функцию соответствующих ферментов.

Сульфотрансферазы ответственны за присоединение сульфурильной группы к гидроксильным и аминогруппам; наибольшая активность данной группы ферментов отмечена в печени, кишечнике, надпочечниках и коже. Полиморфные варианты генов *SULT* влияют на уровень стероидных гормонов и гормонов щитовидной железы, а также на восприимчивость организма к полифенолам, так как активные формы полифенолов деградируют сульфированием [176, 177]. В результате конъюгирования с сульфурильной

группой исходная молекула обладает меньшей реакционной способностью и токсичностью.

Глутатион-S-трансферазы – группа ферментов, функцией которых является присоединение глутатиона к биотрансформированному метаболиту. Субстратами для данных ферментов являются различные органические соединения. Синтез данных ферментов индуцируется избытком активных форм кислорода.

Ферменты GST у человека можно разделить на пять основных классов: альфа, мю, пи, тета и дзета. Каждый класс состоит из двух разных субъединиц, действующих независимо друг от друга. Гены, кодирующие синтез данных ферментов, характеризуются значительным популяционным полиморфизмом. Роль полиморфных вариантов генов *GST* изучалась многими научными группами; полиморфизмы данного гена увеличивают риск сердечно-сосудистых [13], онкологических [178] и иммунологических [179–181] заболеваний, а также влияют на фармакодинамику лекарственных средств [182]. Также известна ассоциация вариантов генов *GST* с нарушением сперматогенеза у мужчин [183, 184].

N-ацетилтрансферазы – класс ферментов, отвечающих за перенос ацетильной группы для трансформации ароматические амины/гидразины в ароматические амиды и гидразиды. Полиморфные варианты гена *NAT* влияют на метаболизм лекарственных препаратов (например, изониазид, гидралазин), вызывая гепатоксичный эффект [185].

Глутатионпероксидазы — семейство ферментов, основной функцией которых является восстановление гидроперекисей липидов в соответствующие спирты и восстановление пероксида водорода до воды. В 2020 году ученые из Тайваня провели исследование случай-контроль, в котором показали связь между полиморфными вариантами гена *Gpx*, риском развития генитального эндометриоза и степенью его тяжести [185]. Также обсуждается роль полиморфизмов данного гена в развитии онкологических заболеваний [186].

Наличие полиморфных вариантов генов системы детоксикации может влиять на функцию ферментов, и, соответственно, на восприимчивость организма к действию токсических веществ.

В исследовании Su M. *et al.* изучали связь между полиморфизмом генов (глутатион-S-трансфераза, эпоксид-гидролаза, и бета-2-адренергический рецептор) и загрязнением воздуха (учитывали концентрацию оксида азота, оксида углерода, оксида серы и ультрадисперсных частиц P10) у детей с респираторными заболеваниями, проживающими на территории Тайваня. Обнаружена статистическая связь между полиморфизмом гена глутатион-S-трансферазы и всеми показателями загрязнения воздуха, кроме оксида азота; а также связь между полиморфизмом гена эпоксид-гидролазы и оксидом азота. Помимо этого, авторы оценили сочетанное влияние изученных полиморфизмов и загрязнителей на риск бронхиальной астмы у детей. Наиболее устойчивая модель включала в себя два показателя – концентрацию ультрадисперсных частиц P10 и полиморфизм глутатион-S-трансферазы [187]. Авторы сделали вывод, что глутатион-S-трансфераза является ключевым геном для защиты от загрязнения воздуха, а полиморфизмы его гена в сочетании с воздействием загрязнителей могут изменять восприимчивость организма к респираторным и аллергическим заболеваниям. Аналогичные результаты были получены в исследовании Lee Y. *et al.* [188].

Результаты исследований, проведенных в других странах, также демонстрируют роль полиморфных вариантов гена глутатион-S-трансферазы в накоплении различных органических АХВ [14, 188, 189].

Также ряд научных работ продемонстрировали роль полиморфизма генов I фазы детоксикации (система цитохрома P450) в защите организма от влияния вредных веществ. Например, в исследовании Huang L. *et al.* наличие полиморфизма гена *CYP1A1* вместе с табакокурением ассоциировано с риском синдрома задержки роста плода; при этом по отдельности данные факторы на риск данного акушерского осложнения не влияли [190]. В исследовании Landi M. *et al.* наличие полиморфизм гена *CYP1A1* влияло на восприимчивость

пациентов к диоксинам; кроме того, сочетание уровня диоксина и данного полиморфизма увеличивало риск кожных заболеваний [191]. В других исследованиях не найдено связи между полиморфизмом генов I фазы детоксикации и накоплением АХВ в различных категориях пациентов [12, 192, 193].

1.5. Антиоксидантная терапия

Антиоксиданты — группа лекарственных препаратов, которые нейтрализуют свободные радикалы. К антиоксидантам относятся различные витамины, минералы, а также полиненасыщенные жирные кислоты. Различные антиоксиданты (в виде биологически активных добавок) и поливитамины часто назначаются в качестве эмпирической прегравидарной подготовки женщинам и мужчинам, планирующим естественную беременность и испытывающим трудности с зачатием, или пациентам на этапе подготовки к циклам ВРТ [194–196].

Целью назначения препаратов в программах ВРТ является увеличение фертильности и повышение эффективности программ, однако эффективность подобной терапии окончательно не определена [194]. Сложность изучения данной проблемы обусловлена несколькими факторами. Во-первых, вследствие гетерогенности исследований (различные группы пациентов, критерии включения и исключения, дозы и комбинации препаратов) сложно обобщить имеющиеся результаты. Во-вторых, в большинстве научных работ изучали отдельные параметры (параметры спермограммы, уровни гормонов, эмбриологические характеристики или частоту наступления беременности), что делает невозможным проведение комплексного анализа влияния антиоксидантов на репродуктивную систему человека. В-третьих, ни в одном из крупных исследований не оценивали частоту живорождения в качестве конечной точки. Наконец, витамины и антиоксидантные добавки не являются рецептурными препаратами, их реализация происходит не только в аптеках, но и в магазинах здоровой пищи, интернет-магазинах, супермаркетах, фитнес

клубах. Поэтому учет распространения данных препаратов крайне затруднен. Невозможно оценить вклад антиоксидантов, получаемых из продуктов питания.

1.5.1. Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты

Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) относятся к эссенциальным (незаменимым) жирным кислотам (не могут быть синтезированы в организме человека). Наиболее важными омега-3-ПНЖК являются альфа-линоленовая кислота (АЛК), эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) и докозагексаеновая кислота (ДГК). Основным пищевым источником омега-3 являются некоторые сорта рыбы (лосось, форель, семга, сельдь, скумбрия, треска), морепродукты, орехи, растительные масла (кукурузное, оливковое), овощи (шпинат, авокадо, брокколи, цветная капуста). Большинство лекарственных препаратов представляют собой комбинацию ПНЖК семейства омега-3 эйкозапентаеновой кислоты, докозагексаеновой кислоты и витамина Е.

Омега-3 были открыты в 1923 году группой американских ученых, однако вплоть до 80-х годов прошлого века их биологическая роль оставалась малоизученной [197]. В 1988 году датские ученые показали, что эскимосы, живущие в Гренландии и употребляющие большое количество жирной рыбы, имеют большую продолжительность жизни и меньший риск сердечно-сосудистых заболеваний, по сравнению с другими народами, а также по сравнению с эскимосами, сменившими место жительства и систему питания [197]. Дефицит омега-3 является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [198–200]. Предполагается, что дефицит омега-3 играет роль в патологии репродуктивной системы – прежде всего, нарушений сперматогенеза у мужчин и менструального цикла у женщин [201–204]. Многие исследователи считают, что прием омега-3 может приносить потенциальную пользу пациенткам с синдромом поликистозных яичников,

эндометриозом, имеющих избыточную массу тела, или на этапе планирования беременности или подготовки к циклу ВРТ [79].

Роль препаратов омега-3 в лечении генитального эндометриоза изучена в различных исследованиях. Khanaki K. *et al.* показали, что соотношение между ЭПК и арахидоновой кислотой в сыворотке крови пациенток отражает степень тяжести заболевания [205]. Кроме того, употребление большого числа омега-3 в пищевых продуктах уменьшает выраженность дисменореи при эндометриозе, что повышает качество жизни пациенток [206]. Согласно результатам одного из крупнейших в мире исследований – Исследование здоровья медсестер (англ. Nurses' Health Study), у пациенток, употребляющих в пищу омега-3 в количестве выше 75-го перцентиля, на 22% реже диагностировали генитальный эндометриоз [207].

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) является наиболее распространенной эндокринопатией у женщин репродуктивного возраста. СПКЯ часто сопровождается различными метаболическими нарушениями - инсулинорезистентностью, дислипидемией, ожирением, что повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа и связанных с этими патологиями осложнений. Большинство опубликованных работ демонстрируют положительное влияние приема омега-3 на метаболический профиль пациенток с СПКЯ. Группа исследователей из Ирландии показали, что назначение омега-3 пациенткам с СПКЯ улучшает андрогенный профиль, а также показатели липидограммы у молодых пациенток [208]. Одним из фрагментов данной работы был анализ культуры клеток теки яичника коровы: в данной модели арахидоновая кислота модулировала секрецию андростендиона, что может служить объяснением клинических данных. Похожие результаты были получены в исследовании ученых из Ирана: назначение омега-3 у пациенток с СПКЯ приводило к снижению соотношения общий холестерин/липопротеины высокой плотности и липопротеины низкой плотности/липопротеины высокой плотности, но не влияло значительно на уровень триглицеридов [209]. Авторы связывают данные

эффекты с активацией экспрессии параоксоназы-1 – фермента, препятствующего перекисному окислению липидов, т.е. обладающего антиоксидантной активностью – сывороточная ферментативная активность параоксоназы была значимо выше в группе пациенток, получавших омега-3. Авторы рекомендуют прием омега-3 всем пациенткам с СПКЯ для снижения кардиоваскулярных рисков. Особого внимания заслуживают пациентки с СПКЯ, имеющие избыточную массу тела и ожирение, поскольку при сочетании данных состояний вероятность развития метаболических нарушений увеличивается. Mohammadi E. *et al.* в рандомизированном двойном слепом исследовании назначали препараты омега-3 молодым пациенткам с СПКЯ и избыточной массой тела/ожирением. Прием омега-3 в течение 8 недель приводил к значимому снижению уровня адипонектина, глюкозы, инсулина, общего холестерина, липопротеинов низкой плотности, а также индекса инсулинорезистентности (в сравнении с группой плацебо). Кроме этого, в группе пациенток, принимавших омега-3, наблюдали снижение уровня триглицеридов и повышение уровня липопротеинов высокой плотности по сравнению с исходными показателями [210]. Следует отметить, что механизм благоприятного воздействия омега-3 на метаболической профиль у пациенток с СПКЯ не определен, что во многом связано с тем, что клеточные механизмы, лежащие в основе формирования метаболических нарушений при СПКЯ, окончательно не изучены. Несмотря на большое число исследований, демонстрирующих положительные эффекты назначения омега-3 женщинам с СПКЯ, мета-анализ, проведенный в 2016 году, не показал значимого влияния омега-3 на андрогенный профиль у пациенток с СПКЯ [211]. Влияние омега-3 на липидный профиль также оценивали только в отдельных исследованиях, имеющих различные ограничения по объему выборки, дизайну исследования, а также критериям диагностики и включения/исключения.

В нескольких исследованиях оценивали роль ПНЖК в программах ВРТ. Так, Mirabi P. *et al.* показали, что концентрация ЭПК в сыворотке пациенток

является независимым предиктором качества полученных ооцитов в циклах ВРТ [212]. Похожие результаты были получены в работах ученых из Нидерландов: прекоцепционное потребление в пищу большого числа продуктов, богатых омега-3, увеличивало число эмбрионов с отличной морфологией, не оказывая негативного влияния на овариальный ответ и гормональные показатели [213]. Существуют противоположные данные – в проспективном когортном исследовании Jungheim E.S. *et al.* повышение альфа-линоленовой кислоты в крови пациенток, проходящих программу ЭКО, было ассоциировано со снижением частоты наступления беременности [214]. Авторы предполагают, что негативное влияние уровня альфа-линоленовой кислоты может быть связано с нарушением процесса имплантации, хотя патогенетические механизмы данных нарушений на сегодняшний день неизвестны.

Многие исследователи подчеркивают положительное влияние препаратов омега-3 на параметры сперматогенеза у мужчин, особенно у мужчин с патозооспермией неясной этиологии. Показана положительная корреляция между уровнем омега-3 в семенной плазме и ферментативной активностью антиоксидантной системы [215]. В другом РКИ отмечено положительное влияние препаратов омега-3 на концентрацию, подвижность и морфологию сперматозоидов [216]. Кроме того, омега-3 применяются в составе комплексной терапии эректильной дисфункции, особенно у молодых мужчин или мужчин с сахарным диабетом, гипертонической болезнью или ишемической болезнью сердца, имеющих противопоказания к назначению других препаратов [217].

1.5.2.Кофермент Q

Кофермент Q (убихинон) – это группа коферментов, содержащих хиноидную группу (обозначается Q) и несколько изопрениловых групп (у человека – 10, поэтому кофермент Q10). Химическая структура кофермента Q10 была открыта в 1957 году, а в 60-х годах прошлого века был создан

препарат, который активно применяли в терапии кардиологической патологии [218].

Убихинон является компонентом цепи переноса электронов и принимает участие в процессе окислительного фосфорилирования. Кофермент Q10 синтезируется в организме человека из мевалоновой кислоты и производных тирозина и фенилаланина. Пищевыми источниками кофермента Q10 являются различные сорта мяса (курица, говядина), растительные масла, орехи.

Биоэнергетические и антиоксидантные свойства кофермента Q10 указывает на его возможную роль в биохимии спермы и фертильности человека. Кофермент Q10 обнаруживается в семенной жидкости человека, при этом его концентрация ассоциирована с концентрацией и подвижностью сперматозоидов [219, 220]. Различные исследователи наблюдали обратную корреляцию между уровнем кофермента Q10 в семенной плазме, маркерами оксидативного стресса и концентрацией сперматозоидов с патологической морфологией, что стало основанием для широкого назначения данного препарата мужчинам с нарушениями репродуктивной функции. При этом имеющиеся в литературе данные относительно влияния кофермента Q10 на параметры эякулята остаются противоречивыми. Safarinejad MR *et al.* показали, что ежедневный прием 200 мг кофермента Q10 приводит к значимому улучшению концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов у пациентов с олигоастенотератозооспермией неясной этиологии [221]. В исследовании Nadjarzadeh A. *et al.* назначение аналогичной дозы препарата мужчинам с патозооспермией приводило к снижению уровня маркеров оксидативного стресса, но не влияло на показатели спермограммы [221]. По данным мета-анализа, проведенного в 2013 году, кофермент Q10 в целом положительно влияет на основные показатели спермограммы, однако ничто не указывает на его эффективность в повышении частоты наступления беременности и живорождения [222].

Роль кофермента Q10 в женской репродуктивной системе на сегодняшний день изучена недостаточно. Özcan P. *et al.* в исследованиях на мышцах показали, что кофермент Q10 уменьшает повреждение ткани яичника в условиях окислительного стресса [222]. Тем не менее, имеющихся данных недостаточно для широкого использования препаратов кофермента Q10 в клинической практике.

1.5.3. Антиоксиданты при бесплодии: доказательная база

В 2020 году опубликован Кохрановский обзор, посвященный эффективности антиоксидантной терапии у пациенток с бесплодием и субфертильностью. Для проведения анализа были отобраны 63 исследования, включавших 7 760 пациенток. Исследователи сравнивали прием пероральных антиоксидантов (мелатонин, N-ацетилцистеин, L-аргинин, миоинозитол, карнитин, селен, витамины В, С, Е, Д, коэнзим Q10, ПНЖК или их комбинации) по сравнению с отсутствием лечения, с плацебо или с приемом других антиоксидантов. По результатам мета-анализа были получены слабые доказательства повышения частоты наступления беременности у субфертильных пациенток, принимающих антиоксиданты, по сравнению с отсутствием терапии (ОР 1,65, 95% ДИ 1,43; 1,89; P <0,001, 35 РКИ, 5165 пациенток). Также были получены слабые доказательства повышения частоты живорождения у пациенток после приема антиоксидантов по сравнению с отсутствием терапии (ОР 1,81, 95% ДИ 1,36; 2,43; P <0,001, 13 РКИ, 1227 пациенток). Не было получено данных о влиянии антиоксидантов на частоту эктопической и многоплодной беременности, а также на частоту ранних репродуктивных потерь. Не было отмечено повышения частоты диспептических явлений у пациенток в экспериментальной группе. Авторы исследования отмечают «низкое» качество доказательной базы: недостаток информации об исходах, небольшой объем выборки, высокий риск систематической ошибки, гетерогенность исследований при первичном

отборе: различные группы пациенток, различные типы и дозы антиоксидантных препаратов [15]

В 2019 году был опубликован Кохрановский обзор, посвященный эффективности антиоксидантных препаратов у мужчин. Для анализа были отобраны 61 РКИ, включавших 6264 мужчин в возрасте от 18 до 65, обратившихся в клиники для лечения бесплодия или проведения ВРТ. В качестве антиоксидантной терапии использовали 18 различных пероральных препаратов. Авторы показали повышение частоты живорождения у пациентов в экспериментальной группе (ОР 1,79, 95% ДИ 1,20; 2,67, $P = 0,005$, 7 РКИ, 750 мужчин). Однако после исключения из анализа исследований с высоким риском систематической ошибки, статистически значимых различий в частоте живорождения не было получено (ОР 1,38, 95% ДИ 0,89; 2,16; 540 мужчин, 5 РКИ, $P = 0,15$). Также были получены слабые доказательства повышения частоты наступления беременности при приеме антиоксидантной терапии по сравнению с плацебо/отсутствием терапии (ОР 2,97, 95% ДИ 1,91; 4,63, $P < 0,0001$, 11 РКИ, 786 мужчин). Не было получено статистически значимых различий при оценке частоты ранних репродуктивных потерь (ОР 1,74, 95% ДИ 0,40; 7,60, $P = 0,46$, 3 РКИ, 247 мужчин). Отмечено повышение частоты диспептических жалоб у мужчин в экспериментальной группе (ОР 2,51, 95% ДИ 1,25 to 5,03, $P = 0,010$, 11 РКИ, 948 мужчин). Авторы обзора также отмечают низкое качество доказательной базы и подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований.

1.6. Витамин Д и антропогенное загрязнение

Витамин Д – это жирорастворимый витамин, принадлежащий к семейству стероидных гормонов. Основной ролью витамина Д является регуляция метаболизма кальция и фосфора. Витамин Д влияет на всасывание кальция в 12-перстной кишке и реабсорбцию кальция в почках, а также поддерживает минерализацию костей путем регуляции дифференцировки

хондроцитов и остеобластов [223]. Основным источником витамина Д является эндогенный синтез в коже под воздействием солнечного света, а дополнительными источниками – некоторые пищевые продукты (например, молочные продукты или жирные сорта рыбы).

По данным эпидемиологических исследований, около 1 миллиарда человек во всем мире имеют недостаточный уровень витамина Д [223]. В последние годы возрастает интерес к нескелетным эффектам витамина Д. Показана связь витамина Д с патогенезом неврологических, аутоиммунных и эндокринных заболеваний [224–226].

Значение витамина Д в репродуктивной системе человека подтверждается экспрессией его рецептора в яичниках, эндометрии, плаценте, сперматозоидах, гипофизе [227, 228]. Предполагается роль недостаточного уровня витамина Д в развитии синдрома поликистозных яичников [229], ановуляции и других нарушений менструального цикла [230], наружного генитального эндометриоза [231], нарушении сперматогенеза [232].

При этом исследования, в которых изучалась роль витамина Д в эффективности циклов ВРТ, демонстрируют противоположные результаты. В исследовании итальянских ученых назначение витамина Д в течение 45 дней перед проведением цикла ВРТ привело к повышению уровня витамина Д (33,2 нг/мл против 24,3 нг/мл, $p < 0,0001$) и увеличению частоты имплантации (37,1% против 19,2%, $p = 0,0151$) [233]. По другим данным, недостаточность и дефицит витамина Д не связаны с вероятностью наступления беременности, но снижают частоту родов после ВРТ [234, 235]. Также показано положительное влияние приема витамина Д на показатели инсулинорезистентности и эффективность ВРТ в группе пациенток с метаболическими нарушениями и синдромом поликистозных яичников [235, 236]. Однако в других исследованиях ассоциации между уровнем витамина Д, качеством гамет, эмбрионов и эффективностью циклов ВРТ не наблюдали [237, 238].

Подобные различия в результатах исследований можно объяснить несколькими факторами. Во-первых, метаболизм витамина Д зависит от

генетических (особенности тканевых рецепторов к витамину Д и ферментных систем, отвечающих за его биотрансформацию) и этнических особенностей пациенток [239, 240]. Во-вторых, в национальных исследованиях используются различные классификации достаточного и дефицитного уровня витамина Д. В-третьих, для определения витамина Д в крови могут быть использованы различные методики, при этом существует значительная вариабельность как между методами, так и между лабораториями, использующими одинаковые методы.

В литературе описаны различные классификации уровней витамина Д, в нашей стране наиболее часто используют классификацию Российской Ассоциации Эндокринологов [241]:

Таблица 1

Классификация уровня витамина Д

Классификация	Уровни 25(ОН)Д в крови, нг/мл (нмоль/л)
Выраженный дефицит витамина Д	< 10 нг/мл (<25 нмоль/л)
Дефицит витамина Д	< 20 нг/мл (<50 нмоль/л)
Недостаточность витамина Д	≥ 20 и <30 нг/мл (≥ 50 и <75 нмоль/л)
Адекватные уровни витамина Д	≥30 нг/мл* (≥ 75 нмоль/л)
Уровень с возможным проявлением токсичности витамина Д	> 150 нг/мл (>375 нмоль/л).
* рекомендуемый референсный интервал для лабораторий 30-100 нг/мл	

Распространенность дефицита и недостаточности витамина Д в мире является предметом активных дискуссий. По данным крупного многоцентрового исследования Cashman K. *et al.* выраженный дефицит витамина Д (менее 30 нг/мл) имеют 17,7% европейцев в осенне-зимний

период, и 8,3% европейцев – в весенне-летний период. Частота недостаточности витамина Д (менее 40 нг/мл) в европейской популяции составила 40% [242]. Национальные исследования демонстрируют широкую распространенность дефицита витамина Д в странах Ближнего Востока, Индии, Китае, Монголии. К группе риска пациентов с дефицитом витамина Д относят беременных женщин, детей с низкой массой тела при рождении, пожилых людей [223].

В Российской Федерации одной из причин распространенности дефицита витамина Д является географическое расположение и климатические особенности. В северной широте выше 35 параллели кожа человека практически не вырабатывает витамин Д вследствие более острого угла падения солнечных лучей и их рассеивания в атмосфере в период с ноября по март [241]. При этом большинство крупных городов расположены значительно севернее 35 параллели: Москва находится на 55 широте, Санкт-Петербург – на 59, Владивосток – на 43.

Ассоциация между антропогенным загрязнением и метаболизмом витамина Д в организме человека изучается несколькими научными группами [16, 17]. Одним из вероятных патогенетических механизмов является повышенная абсорбция ультрафиолетовых лучей средней волны вследствие загрязнения воздуха твердыми частицами, что приводит к уменьшению числа фотонов, достигающих поверхности Земли [17]. Бельгийские ученые показали ассоциацию между озоновым слоем тропосферы и распространенностью дефицита витамина Д [16]. Другие исследования подтверждают связь между загрязненностью региона и эпидемиологией дефицита витамина Д, хотя напрямую ассоциация между уровнем витамина Д и АХВ не изучалась [243].

При этом анализ связи между недостаточным уровнем витамина Д и антропогенным загрязнением является актуальной задачей, учитывая сложность строения «эндокринной системы витамина Д» и многообразие негативных эффектов АХВ в качестве эндокринных разрушителей.

Глава 2. Материалы и методы исследования.

Исследование проводилось на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор - академик РАН Г.Т. Сухих). Набор пациентов осуществлялся в отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия им. проф. Б. В. Леонова (заведующий - д.м.н., профессор Е.А. Калинина). Лабораторные исследования проводились в отделе системной биологии в репродукции (заведующий – д.ф-м.н. Франкевич В. Е.) и в лаборатории молекулярно-генетических методов (заведующий – к.м.н. Донников А. Е.).

На первом этапе исследования было отобрано 340 супружеских пар с бесплодием различного генеза. В результате проведенного обследования из 340 пар выбыло 40 пар в связи с несоответствием критериям включения или отказа от дальнейшего участия в исследовании. Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Супружеские пары были обследованы в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 30.08.2012 г. "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению".

На первом этапе исследования создана анкета для определения влияния образа и жизни и социального статуса на уровень АХВ в организме пациенток. Проведено анкетирование пациенток, а затем определение уровня АХВ и генотипа системы детоксикации. В результате первого этапа исследования определены факторы образа жизни, ассоциированные с повышенным накоплением АХВ. Проведена оценка влияния уровня АХВ на репродуктивные исходы, изучена связь АХВ с генотипом системы детоксикации.

На втором этапе исследования проведена оценка эффективности антиоксидантной терапии, а также изучено влияние модификации образа жизни на репродуктивные исходы.

2.1. Дизайн исследования для задачи 2

Задача 2 – оценить содержание приоритетных репродуктивных токсикантов: свинца, кадмия, ртути, стирола в крови, бисфенола А в крови и фолликулярной жидкости пациенток, проходящих лечение в программах ВРТ, и выявить взаимосвязь между уровнем данных антропогенных химических веществ (АХВ) и показателями оогенеза с учетом клинико-лабораторных данных пациенток.

В качестве параметров оогенеза оценивали число фолликулов, число ооцитов, долю зрелых ооцитов в общей когорте, число дегенеративных ооцитов, наличие цитоплазматических/экстрацитоплазматических дисморфизмов ооцитов.

Конечные точки:

коэффициент корреляции между уровнем АХВ в организме пациенток и параметрами оогенеза;

средние уровни и частоты параметров оогенеза в группах сравнения.

2.3. Дизайн исследования для задачи 3

Задача 3 – оценить содержание стирола и бисфенола А в крови партнеров пациенток, проходящих лечение в программах ВРТ, и выявить взаимосвязь между уровнем АХВ и показателями спермограммы с учетом клинико-лабораторных данных пациентов.

Одномоментное исследование.

Конечные точки:

коэффициент корреляции между уровнем АХВ, подвижностью, морфологией и концентрацией сперматозоидов;

2.3. Дизайн исследования для задачи 4

Задача 4 – изучить связь между уровнем АХВ в организме женщин и полиморфными вариантами генов системы детоксикации.

Одномоментное исследование.

Конечная точка – медиана уровней АХВ при различных аллельных вариантах генов детоксикации.

2.4. Дизайн исследования для задачи 5

Задача 5 – проанализировать исходы программ ВРТ (показатели раннего эмбриогенеза, частота наступления беременности, частота родов живым плодом) в зависимости от клинико-anamнестических, лабораторных, эмбриологических данных, а также от уровня АХВ в организме пациентов и наличия полиморфизмов генов системы детоксикации.

Для решения задачи 5 было проведено проспективное исследование. Группы пациенток: группа 1 - с высоким содержанием АХВ, группа 2 – с низким содержанием АХВ.

В качестве показателей раннего эмбриогенеза учитывали частоту фертилизации (число зигот с нормальным оплодотворением/число зрелых ооцитов), количество полученных бластоцист, количество бластоцист «отличного качества», уровень бластуляции (число бластоцист/число зигот).

Для проведения анализа были введены условные понятия *«бластоциста отличного качества»* (эмбрионы класса 4АА, 5АА и 6АА) и *«бластоциста хорошего качества»* (эмбрионы класса 2АА, 3АА, а также эмбрионы, в которых хотя бы один из параметров оценивали, как В).

Частота наступления клинической беременности, частота потерь беременности до 12 недель гестации, частота живорождений, кумулятивная частота родов, а также процент циклов с отменой переноса по причине отсутствия эмбрионов, пригодных для переноса в полость матки рассчитывались на один проведенный цикл. Под отсутствием пригодных для

эмбриотрансфера эмбрионов понимали отсутствие как минимум 1 бластоцисты уровнем не ниже ЗВВ по классификации Гарднера на 5-е сутки культивирования эмбрионов.

Первичной конечной точкой для данного этапа явилось скорректированное отношение шансов наступления беременности/родов в группах сравнения, оцененное с помощью многофакторного анализа. Вторичной конечной точкой явились медианы и частоты эмбриологических параметров в группах сравнения.

2.5. Дизайн исследования для задачи 6

Задача 6 - Оценить репродуктивные исходы при модификации образа жизни с использованием анкетирования и повторного измерения уровня АХВ.

Пациенткам, участвующим во втором этапе исследование, рекомендована модификация образа жизни. Через 3 месяца проведено повторное анкетирование (оценка выполнения рекомендаций) и повторное измерение уровня АХВ.

Конечные точки:

доля пациенток, выполняющих рекомендации

отношение шансов наступления беременности в зависимости от выполнения рекомендаций

2.6. Дизайн исследования для задачи 7.

Для оценки эффективности антиоксидантной терапии было проведено проспективное рандомизированное исследование. Пациентки были рандомизированы на 4 группы: группа 1а (↑уровень АХВ, антиоксидантная терапия +), группа 1б (↑уровень АХВ, антиоксидантная терапия -), группа 2а (↓уровень АХВ, антиоксидантная терапия +), группа 2б (↓уровень АХВ, антиоксидантная терапия -).

Антиоксидантную терапию назначали в течение 3-х менструальных циклов перед вступлением в цикл ВРТ. В качестве терапии использовали комбинацию пероральных антиоксидантов: коэнзим Q10 300 мг/сутки, эйкозапентаеновая кислота 300 мг/сутки, докозагексаеновая кислота 200 мг/сутки перорально.

Конечной точкой исследования явилось отношение шансов наступления клинической беременности в группах сравнения.

2.7 Дизайн исследования для задачи 8

Задача 7 – проанализировать корреляцию между уровнем витамина Д в крови пациенток, полиморфизмом гена рецептора витамина Д и содержанием АХВ в организме пациенток.

Одномоментное исследование.

Конечные точки исследования:

медиана уровня витамина Д в зависимости от наличия полиморфизма гена рецептора витамина Д;

коэффициент корреляции между уровнем АХВ и уровнем витамина Д;

средние уровни витамина Д в подгруппах пациенток с различным уровнем АХВ.

2.8. Критерии включения и исключения

Были использованы следующие критерии включения для пациентов:

- нормальный кариотип обоих супругов;
- бесплодие различного генеза;
- возраст женщины 18-37 лет включительно;
- индекс массы тела 18,5-29,9 включительно;
- отсутствие противопоказаний к ВРТ;
- информированное согласие на участие в исследовании;

- проживание на территории города Москва и/или Московской области на протяжении минимум 5 лет на момент включения в исследование.

Критерии исключения из исследования:

- использование донорских ооцитов в изучаемом цикле ВРТ;
- со стороны супруга – абсолютная астенозооспермия, 100% тератозооспермия, криптозооспермия, хирургическая экстракция сперматозоидов;
- получение 3-х и менее ооцитов в изучаемом цикле ВРТ;
- прием пероральных антиоксидантов в течение 6 месяцев перед проведением исследования;
- верифицированные заболевания печени, гепатиты В и С (в том числе в анамнезе);
- наличие противопоказаний для приема пероральных антиоксидантов (для задачи 5).

2.9. Расчет объема выборки

Для решения задачи 1 (выявление факторов риска накопления АХВ) объем выборки определялся количеством изучаемых факторов риска (предполагалось изучение 16 предикторов, включенных в анкету). Принимая во внимание, что максимальное число предикторов, включенных в модель, не должно быть больше, чем число исходов, деленное на значение от 5 до 20, для изучения 16 факторов риска необходимо включить минимум 80 человек в каждую группу – всего 160 человек.

Для решения задачи 4 (изучение связи между уровнем АХВ и полиморфными вариантами генов детоксикации) расчет объема выборки был основан на данных литературы [244]. при принятии уровня альфа 0,05, уровня

достоверности исследования 90%, для получения валидных данных в исследование необходимо включить 200 пациенток.

Для решения задачи 5 (оценка исходов ВРТ) расчет объема выборки был основан на данных литературы [245]. Для получения валидных данных при принятии уровня альфа 0,05 и уровня достоверности исследования 90%, с учетом возможного 15% выбывания пациенток из исследования, необходимо включить по 105 пациентки в каждую группу, всего – 210 пациенток.

Объем выборки для задач 6 и 7 (изучение эффективности антиоксидантной терапии/модификации образа жизни) был основан на данных литературы об эффективности пероральных антиоксидантов для пациенток с бесплодием [246]. При принятии уровня альфа 0,025, уровня достоверности исследования 90%, данных о различной частоте наступления беременности при приеме антиоксидантов и в контрольной группе, объем выборки должен составлять 30 пациентов в группу исследования (всего, учитывая распределение в группах 1:1:1:1 – 30:30:30:30 пациентов). Учитывая, что допустима потеря 15% от начального объема выборки, количество включенных в каждую группу женщин должно составить 36 человек, т.е. суммарно 144 женщины.

2.10. Методы исследования

Обследование перед вступлением в цикл ВРТ проводилось в амбулаторных условиях и включало обязательные методы исследования и специальные методы исследования [247].

Обязательные исследования для обоих супругов включали:

- определение антител к бледной трепонеме в крови, антител к вирусу иммунодефицита человека 1, 2 (ВИЧ 1,2), к вирусу гепатита С, антигена вируса гепатита В.

Обязательные исследования для женщины включали:

- клинический анализ крови;

- биохимический анализ крови;
- гемостазиограмму;
- определение группы крови, резус-фактора;
- общий анализ мочи;
- определение антител класса М, G к вирусу краснухи в крови;
- микроскопическое исследование отделяемого половых органов;
- цитологическое исследование соскобов с шейки матки;
- ультразвуковое исследование органов малого таза на 5-8 день менструального цикла;
- флюорографию или рентген грудной клетки;
- электрокардиографию;
- заключение терапевта о состоянии здоровья, о наличии или отсутствии противопоказаний для проведения ВРТ;
- УЗИ молочных желез;
- гормоны крови: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), эстрадиол (E2), тиреотропный гормон (ТТГ), пролактин (ПРЛ), антимюллеров гормон (АМГ);
- молекулярно-биологическое исследование отделяемого слизистых оболочек женских половых органов на возбудителей инфекций, передаваемых половым путем (*Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*).

Обязательные исследования для мужчины включали:

- спермограмму.

Специальные методы исследования включали:

- определение уровня **свинца, ртути и кадмия** в крови женщин методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой;
- определение уровня **бисфенола А и стирола в крови** мужчин и женщин методом хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС);

- определение уровня **бисфенола А** в **фолликулярной жидкости** методом хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС);
- определение уровня **витамина Д** в крови женщин методом хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС);
- определение **генотипов** глутатион S-трансферазы M1 (*GSTM1*), глутатион S-трансферазы T1 (*GSTT1*), глутатион-S-трансферазы P1 (*GSTP1*), N-ацетил трансферазы 2 (*NAT2*), глутатион пероксидазы 1 (*GPX1*), эпоксид гидролазы 1 (*EPHX1*), цитохрома P450 (*CYP1A1*), сульфотрансферазы 1A1 (*SULT1A1*) методом ПЦР в реальном времени;

Таблица 2

Схема обследования пациентов во время проведения исследования

	Перед вступлением в программу	Пункция яичников	2-е сутки после пункции	3-е сутки после пункции	5-е сутки после пункции	2 недели после переноса	3 недели после переноса	5-6 недель после переноса
Стандартные методы обследования	X							
Определение уровня АХВ в крови/ФЖ	X*	X						
Морфологическая оценка эмбрионов				X				
Перенос эмбрионов					X			
β-ХГ						X		
УЗИ	X	X					X	X

*для решения задачи 6 (оценка эффективности антиоксидантной терапии)

2.10.1. Общеклинические методы исследования

При первичной консультации производили сбор анамнестических данных у пациенток: возраст, национальность, место проживания, образование, наличие или отсутствие работы, наличие профессиональных вредностей,

курения и других «вредных привычек», семейное положение. Полученные данные вносили в индивидуальную карту пациента.

При первичном осмотре измеряли рост, вес пациентки, артериальное давление и пульс, оценивали состояние и распределение подкожной жировой клетчатки (наличие ожирения, стрий), проводили осмотр и пальпацию молочных желез, щитовидной железы и органов брюшной полости. Проводили сбор акушерско-гинекологического анамнеза: оценивали менструальную функцию, наличие или отсутствие нарушений менструального цикла в анамнезе, паритет, число своевременных и преждевременных родов в анамнезе, число самопроизвольных прерываний беременности на ранних сроках гестации, наличие осложнений во время беременности и родов. Также выясняли перенесенные гинекологические заболевания, объем перенесенных оперативных вмешательств на органах малого таза. Оценивали наличие перенесенных инфекционных и соматических заболеваний, оперативных вмешательств. Для выявления наследственных заболеваний подробно собирался семейный анамнез.

У каждой женщины уточняли данные о продолжительности бесплодия, а также о проведенных диагностических и лечебных мероприятиях. Отмечали наличие или отсутствие программ ВРТ в анамнезе, а также их особенности (дата и время проведения ВРТ, количество полученных ооцитов, количество полученных эмбрионов, качество эмбрионов при переносе в полость матки, исход программы).

Во время гинекологического исследования проводили осмотр наружных половых органов, оценку их развития и анатомических особенностей, а затем осмотр шейки матки в зеркалах. При бимануальном исследовании органов малого таза оценивали размеры, форму и консистенцию тела матки, подвижность и наличие болезненности при пальпации, наличие опухолевидных образований в области придатков матки, а также наличие спаечного процесса в малом тазу.

Уточняли возраст пациента, наличие или отсутствие профессиональных вредностей, наличие соматических и инфекционных заболеваний в анамнезе. Также оценивали анамнез бесплодия у пациента, количество браков и наличие детей в предыдущих браках, длительность бесплодия и произведенные методы лечения.

2.10.2. Ультразвуковое исследование органов малого таза

УЗИ органов малого таза выполняли в отделении функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России (руководитель – д.м.н., профессор А.И. Гус) на аппарате (Siemens, Германия) с использованием трансвагинального датчика с частотой 7,5 МГц. Впервые УЗИ проводили в первую фазу (5-8 день) менструального цикла, предшествующего циклу стимуляции яичников. Оценивали размер и структуру тела матки, толщину и структуру эндометрия, размеры и объем яичников, количество антральных фолликулов в обоих яичниках, наличие или отсутствие объемных образований в полости малого таза.

Впоследствии УЗ-мониторинг проводили на 2-3 день менструального цикла, в день начала стимуляции яичников, на 6-й день стимуляции яичников, и затем ежедневно до введения триггера овуляции. Во время УЗ-мониторинга проводили оценку динамики фолликулогенеза и роста эндометрия, для своевременной возможности коррекции дозы гонадотропинов, а также с целью определения даты введения антагониста гонадотропин-рилизинг гормона (ант-ГнРГ) и даты введения триггера овуляции, даты трансвагинальной пункции яичников. В дальнейшем УЗИ органов малого таза выполняли на 21 день после переноса эмбриона в полость матки при наличии положительного результата β -хорионического гонадотропина (β -ХГ), с целью визуализации плодного яйца в полости матки. Повторное УЗИ органов малого таза проводили через 5-6 недель после переноса в полость матки с целью определения сердцебиения эмбриона.

2.10.3. Гормональное исследование

Для оценки состояния эндокринной системы и овариального резерва проводили гормональное исследование пациенток в научно-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель – д.м.н. Т.Ю. Иванец). Исследование эндогенного гормонального фона проводилось в период ранней фолликулярной фазы одного из циклов перед овариальной стимуляцией. Проводили измерение концентраций в плазме крови следующих гормонов: ФСГ, Е2, ТТГ, пролактин, АМГ.

2.10.4. Исследование эякулята

Пациентам перед вступлением в цикл ВРТ проводили анализ эякулята. Эякулят собирался путем мастурбации после 3-4 дней полового воздержания в стерильный контейнер. При анализе эякулята определяли характеристики клеточных элементов: концентрацию сперматозоидов, их подвижность, наличие морфологических изменений сперматозоидов, количество лейкоцитов, а также количество и типы незрелых клеток сперматогенеза. Кроме того, оценивался объем спермы, цвет, время разжижения и вязкость эякулята, рН (Таблица 3).

Таблица 3

Нормативные показатели спермограммы (ВОЗ, 2010) [164]

Показатель	Норматив, единицы измерения
Общий объем эякулята	$\geq 1,5$ мл
Концентрация сперматозоидов	≥ 15 млн/мл
Общее количество сперматозоидов	≥ 39 млн
Время разжижения	< 60 минут
Подвижность сперматозоидов	Общая подвижность сперматозоидов $\geq 40\%$ Сперматозоиды с прогрессивным движением $\geq 32\%$
Морфология	$\geq 4\%$ нормальных форм

2.10.5. Овариальная стимуляция и трансвагинальная пункция фолликулов

Овариальную стимуляцию во всех изученных протоколах проводили по протоколу с ант-ГнРГ. Использовали препараты рекомбинантного ФСГ или рекомбинантного ФСГ и ЛГ, или препараты ЧМГ. Доза препарата подбиралась индивидуально в зависимости от возраста пациентки, наличия в анамнезе оперативных вмешательств на яичниках, данных гормонального исследования и количества антральных фолликулов.

Введение экзогенных гонадотропинов начинали со 2-3 дня менструального цикла. При достижении лидирующим фолликулом диаметра 14 мм начинали введение ант-ГнРГ с целью предупреждения эндогенных пиков ЛГ. Затем препарат ант-ГнРГ вводили ежедневно, включая день назначения триггера овуляции. Триггер овуляции вводили при достижении лидирующими фолликулами диаметра 17 мм. В качестве триггера овуляции использовали человеческий хорионический гонадотропин (ХГЧ) в дозе 8 000 – 10 000 МЕ, а при риске развития синдрома гиперстимуляции яичников (при наличии более 15 доминантных фолликулов в обоих яичниках в день назначения триггера овуляции) – а-ГнРГ в дозе 0,2 мг в сочетании с ХГЧ 1 500 МЕ.

Трансвагинальную пункцию (ТВП) яичников проводили под ультразвуковым контролем, с использованием внутривенной анестезии, с использованием одноразовых пункционных игл. Полученную фолликулярную жидкость помещали в стерильные подогретые пробирки.

2.10.6. Морфологическая оценка ооцитов и оплодотворение

Просмотр аспирированной фолликулярной жидкости осуществлялся эмбриологом под контролем стереомикроскопа. Определяли количество полученных ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК), после чего ооциты

отмывали от фолликулярной жидкости и крови, а затем помещали в стерильные планшеты с культуральной средой для периода предварительной инкубации в течение 2-3 часов.

После окончания предварительной инкубации производили денудирование ооцитов, то есть механическое и энзимное удаление клеток кумулюса из препарата. Вначале ОКК помещали на 20 секунд в раствор гиалуронидазы, затем отмывали от фермента в буферной среде и оставляли на 30 минут в исходной культуральной среде. Через 30 минут оставшиеся клетки кумулюса удаляли механическим путем. После энзимной и механической обработки ооцитов оценивали степень зрелости клеток:

- если в цитоплазме клетки визуализируется ядро и отсутствует полярное тельце - ооцит находится на стадии зародышевого пузырька (GV-germinal vesicle), что соответствует профазе первого мейотического деления;
- если в цитоплазме клетки отсутствует ядро и отсутствует полярное тельце - ооцит находится на стадии метафазы первого мейотического деления (M1);
- наличие полярного тельца в перивителлиновом пространстве свидетельствует о завершении процессов созревания ооцита и достижения второго мейотического деления (MII).

На данном этапе эмбриолог проводил морфологическую оценку ооцитов и выявление цитоплазматических и экстрацитоплазматических дисморфизмов. К цитоплазматическим дисморфизмам относили наличие в цитоплазме ооцита центральной гранулярности, вакуолей различного диаметра, аномальных агрегатов гладкого эндоплазматического ретикулума, рефрактерных тел. К экстрацитоплазматическим дисморфизмам относили изменение ширины перивителлинового пространства и наличие в нем гранулярности.

Параллельно с очисткой ооцитов производили центрифугирование, флотирование и обработку спермы супруга. Все зрелые ооциты подвергали оплодотворению методом ИКСИ.

После проведения оплодотворения методом ИКСИ ооциты переносили в культуральную среду для дальнейшего культивирования. Нормальное оплодотворение регистрировали при наличии двух симметричных по размеру пронуклеусов в цитоплазме через 16-18 часов после проведения ИКСИ. В случае наличия одного или более двух пронуклеусов в цитоплазме оплодотворение расценивали как аномальное. При отсутствии пронуклеусов в цитоплазме ооцита ооцит считали неоплодотворившимся.

2.10.7. Сбор фолликулярной жидкости

Образцы фолликулярной жидкости (ФЖ) отбирали непосредственно после извлечения ооцитов. Для анализа были отобраны образцы ФЖ из первых 2-3 аспирированных фолликулов. Образцы фолликулярной жидкости, контаминированные кровью, исключались из исследования. После взятия все образцы подвергали криоконсервации.

2.10.8. Морфологическая оценка эмбрионов

Морфологическую оценку эмбрионов проводили согласно модифицированной классификации Гарднера. Учитывались степень зрелости бластоцист, качество внутриклеточной массы и качество трофэктодермального слоя.

Бластоцисты оценивали по степени зрелости следующим образом:

1. полость бластоцисты занимает менее половины объема эмбриона, что соответствует ранней бластоцисте;
2. полость бластоцисты больше половины объема эмбриона;
3. полная бластоциста - полость бластоцисты занимает весь объем эмбриона;
4. расширенная бластоциста - полость становится больше и начинается истончение блестящей оболочки;
5. проникновение трофэктодермы сквозь блестящую оболочку;

б. вылупившаяся бластоциста, покинувшая блестящую оболочку.

Внутриклеточную массу классифицировали следующим образом:

А. плотно упакованная с большим количеством клеток;

В. более свободная группировка среднего количества клеток;

С. незначительное количество клеток.

Трофэктодермальный слой классифицировали следующим образом:

А. много клеток, формирующих трофэктодерму;

В. немного клеток, формирующих неплотную трофэктодерму;

С. незначительное количество больших клеток.

Для оценки эмбриологического этапа были введены условные понятия «бластоциста отличного качества» (эмбрионы класса 4АА, 5АА и 6АА) и «бластоциста хорошего качества» (эмбрионы класса 2АА, 3АА, а также эмбрионы, в которых хотя бы один из параметров оценивали как В).

2.10.9. Перенос эмбрионов в полость матки и ведение посттрансферного периода

Перенос эмбрионов в полость матки осуществляли на 5 сутки культивирования с помощью мягкого катетера. Во всех случаях проводили селективный перенос эмбриона. При наличии более 1 бластоцисты хорошего или отличного качества (ЗВВ и более по классификации Гарднера) осуществляли витрификацию оставшихся эмбрионов.

После проведения ТВП яичников всем пациенткам для поддержки лютеиновой фазы индуцированного цикла назначали микронизированный прогестерон интравагинально в дозе 600 мг/сутки или дидрогестерон в дозе 30 мг/сутки перорально. При этом, если в качестве триггера овуляции использовали сочетание а-ГнРГ с ХГ в дозе 1500 МЕ, для поддержки лютеиновой фазы назначали также препараты эстрогенов (эстрадиола валерат в дозе 6 мг/сутки).

2.10.10. Оценка клинических результатов циклов ВРТ

Через 14 дней после переноса эмбриона в полость матки определяли концентрацию β -ХГ в сыворотке крови пациентки. Тест на беременность считали положительным, если уровень β -ХГ составлял более 200 МЕ/л. Через 21 день после переноса эмбриона проводили диагностику клинической беременности, и при визуализации плодного яйца в полости матки регистрировали **клиническую беременность**.

Через 4 месяца после переноса эмбриона в полость матки проводили телефонный опрос всех пациенток с наступившей беременностью, для уточнения течения 1 триместра беременности. На основании полученных данных определяли **частоту выкидыша**.

Также проводили телефонный опрос всех пациенток через 40-42 недели после переноса эмбриона в полость матки. На основании полученных данных фиксировали **частоту родов**.

В случае отсутствия наступления беременности при переносе эмбриона в нативном цикле ВРТ, и наличии витрифицированных эмбрионов, для достижения беременности применяли перенос размороженного эмбриона. Подготовку эндометрия осуществляли с использованием стандартного протокола циклической гормональной терапии, размораживание и перенос эмбриона осуществляли по стандартной методике [248]. При наступлении беременности и родов после переноса размороженных эмбрионов фиксировали **кумулятивную частоту родов**.

2.10.11. Масс-спектрометрические исследования

Данный этап исследования проводили в лаборатории протеомики и метаболомики репродукции человека отдела системной биологии в репродукции (руководитель к.б.н. Стародубцева Н. Л.). Для исследования были использованы образцы венозной крови и образцы фолликулярной жидкости.

При проведении всех масс-спектрометрических исследований лаборатория не имела доступа к данным пациенток.

Определение уровней ртути, кадмия, и свинца осуществляли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.

Определение уровней бисфенола А, стирола и витамина Д осуществляли методом хромато-масс-спектрометрии (высокоэффективная жидкостная хроматография-масс-спектрометрия, ВЭЖХ-МС/МС).

2.10.11. Изучение генотипа системы детоксикации

Данный этап исследования проводили в лаборатории молекулярно-генетических методов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (руководитель к.м.н. Донников А. Е.). Для исследования были использованы образцы венозной крови. При проведении молекулярно-генетических исследований лаборатория не имела доступа к данным пациенток.

Определение генотипов глутатион-S-трансферазы М1 (*GSTM1*), глутатион-S-трансферазы Т1 (*GSTT1*), глутатион-S-трансферазы Р1 (*GSTP1*), супероксид дисмутазы 3 (*SOD3*), N-ацетил трансферазы 2 (*NAT2*), глутатион пероксидазы 1 (*GPX1*), эпоксид гидролазы 1 (*EPHX1*), цитохрома Р450 (*CYP1A1*) и сульфотрансферазы 1А1 (*SULT1A1*) производилось методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с анализом кривых плавления с помощью коммерческих тест-систем (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

2.11. Статистическая обработка полученных данных

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистических программ «Statistica V10» (США), SPSS Statistics 22 (США). Для качественных данных определяли доли и риски (%). Для сравнения качественных данных в двух и более группах, а

также для установления значимых различий между ними использовали тест χ^2 , для вычисления которого прибегали к построению таблиц сопряженности. Для сравнения бинарных данных мерой сравнения явилось отношение шансов (ОШ) с 95% доверительным интервалом (95% ДИ). При расчете скорректированного ОШ (ОШ_{кор}) для контроля множественных конфаундеров использовался метод логистической регрессии и построение ROC-кривых с расчетом площади под кривой (AUC – от англ. – Area Under the Curve).

Перед проведением сравнительного анализа количественных данных в исследуемых группах определяли вид распределения данных (тест Колмогорова-Смирнова, графический анализ данных). При нормальном виде распределения данных определяли среднее значение со стандартным отклонением, для оценки различий в группах применяли методы параметрической статистики (t-тест для сравнения данных в 2-х группах или ANOVA для сравнения данных в нескольких группах). При ненормальном распределении данных определяли медиану с интерквартильным размахом, для оценки различий в группах применяли методы непараметрической статистики (тест Манна-Уитни для сравнения данных в двух группах или тест Крускала-Уаллиса для сравнения данных в нескольких группах). Для сравнения показателей, измеренных в разных условиях на одной и той же выборке пациентов, использовали тест Уилкоксона.

Зависимые данные оценивались с помощью коэффициента корреляции. Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена. Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Для уменьшения ошибки выборки использовались строгие критерии отбора пациентов. Для уменьшения информационной ошибки исследования использовались одни и те же методы диагностики (на базе одних и тех же лабораторий) для всех пациентов. Оценка воздействующего фактора и исхода также была одинакова для всех пациентов.

ГЛАВА 3. Результаты исследования

3.1. Клинико-anamнестическая характеристика пациенток, включенных в исследование

Был проведен анализ клинико-anamнестических особенностей пациенток, включенных в исследование, в зависимости от наступления беременности в изученном цикле ВРТ. Были сформированы 2 группы пациенток: группа I (беременность наступила, n=136) и группа II (беременность не наступила, n=164).

Средний возраст пациенток составил $31,3 \pm 3,2$ лет в группе I и $31,5 \pm 3,4$ лет в группе II ($p=0,4486$). В группе I 43 пациентки (31,6%) были младше 30 лет, 66 пациенток (48,5%) были в возрасте от 30 до 34 лет включительно, 27 пациенток (19,9%) были в возрасте 35 лет или старше. Похожие показатели наблюдали в группе II: 50 пациенток (30,5%) были младше 30 лет, 77 пациенток (47,0%) были в возрасте от 30 до 34 лет включительно, 37 пациенток (22,6%) были старше 35 лет ($p=0,8506$).

Социально-экономические характеристики (уровень образования, семейное положение, наличие или отсутствие работы) не различались в группах сравнения.

При оценке **антропометрических характеристик** (рост, масса тела, индекс массы тела) также не получено значимых различий в группах сравнения, подробные данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

Антропометрические характеристики пациенток

Группы	Средний рост женщин, см	p-уровень, t-тест	Средний вес женщин, кг	p-уровень, t-тест	ИМТ женщин	p-уровень, t-тест
Группа I, n=136	$168,1 \pm 4,9$	0,7800	$62,2 \pm 7,6$	0,9253	$22,0 \pm 2,5$	0,2875
Группа n=164	$167,9 \pm 5,0$		$61,9 \pm 7,6$		$21,9 \pm 3,4$	

Затем оценили **менструальный цикл** в группах сравнения. 14 пациенток (10,3%) в группе I и 25 пациенток (15,2%) в группе II имели в анамнезе олигоменорею ($p=0,1360$). 3 пациентки (2,2%) в группе I и 2 пациентки (1,2%) в группе II имели в анамнезе вторичную аменорею ($p=0,4125$). 21 пациентка (15,4%) в группе I и 19 пациенток (11,6%) в группе II имели дисменорею ($p=0,2092$). Все нарушения менструального цикла были скорректированы перед проведением цикла ВРТ.

При оценке особенностей менструального цикла (возраст менархе, длительность менструального цикла, длительность менструального кровотечения) значимых различий в группах не отмечено. Возраст дебюта половой жизни также не различался в группах (таблица 5).

Таблица 5

Менструальный цикл пациенток в группах сравнения

Группа	Возраст менархе	Длительность цикла	Длительность менструации	Дебют половой жизни
Группа I (n=136)	13,1±1,3	28,7±1,4	5,0±0,8	18,9±2,5
Группа II (n=164)	13,2±1,2	28,6±1,7	4,9±0,7	18,8±2,5
p-уровень, t-тест	0,4129	0,1185	0,1545	0,6799

Комбинированные оральные контрацептивы принимали 5 пациенток (3,7%) в группе I и 7 пациенток (4,3%) в группе II ($p=0,5180$). Длительность приема комбинированных оральных контрацептивов не различалась в группах сравнения.

При оценке **гинекологической заболеваемости** выявлены погранично значимые различия при оценке частоты ИППП в анамнезе (30,5% в группе II и 22,8% в группе I, $p=0,0861$) и значимые различия при оценке частоты миомы матки (14,7% в группе I, 7,3% в группе II, $p=0,0030$), данные представлены в таблице 6.

Оценивали наличие в анамнезе пациенток инфекционных заболеваний: хламидийной инфекции, гонореи, трихомониаза, микоплазменной инфекции. Все инфекции были пролечены до вступления в цикл ВРТ с получением негативного лабораторного контроля. Среди заболеваний шейки матки встречались хронические цервициты и внутриэпителиальное поражение низкой степени (LSIL). Заболевания эндометрия были представлены полипами эндометрия и гиперплазией эндометрия без атипии. Среди доброкачественных образований яичников встречались серозные цистаденомы и зрелые тератомы. Все воспалительные заболевания органов малого таза, гиперпластические процессы эндометрия, патология шейки матки были пролечены до вступления женщины в цикл ВРТ.

Таблица 6

Гинекологические заболевания в группах сравнения

Показатели	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	p-уровень
Хламидийная инфекция, n (%)	11 (8,1%)	12 (7,3%)	0,4851
Генитальный герпес, n (%)	1 (0,7%)	4 (2,4%)	0,2491
ИППП в анамнезе, n (%)	31 (22,8%)	50 (30,5%)	0,0861
Патология шейки матки, n (%)	18 (13,2%)	14 (8,5%)	0,1315
НГЭ/аденомиоз, n (%)	36 (26,5%)	37 (22,6%)	0,2572
Миома матки, n (%)	20 (14,7%)	12 (7,3%)	0,0030
Полип/ГЭ, n (%)	30 (22,1%)	28 (17,1%)	0,1731
СПКЯ, n (%)	8 (5,9%)	12 (7,3%)	0,3995
Доброкачественные образования яичников, n (%)	9 (6,6%)	8 (4,9%)	0,3445

* χ^2 тест

При анализе данных о структуре оперативного лечения гинекологических заболеваний отмечена более высокая частота консервативной миомэктомии в группе I по сравнению с группой II (11,0% против 4,3%, соответственно,

$p=0,2222$). Частота других гинекологических оперативных вмешательств была сравнима в группах, данные представлены в таблице 7.

Таблица 7

Хирургическое лечение гинекологических заболеваний в группах сравнения

Вид операции	Группа I (n=136)		Группа II (n=164)		p, χ^2 тест
	n	%	n	%	
Сальпингоовариолизис	87	64,0	103	62,8	0,4655
Тубэктомия	29	21,3	45	27,4	0,1386
Резекция яичников	33	24,3	41	25,0	0,4996
Миомэктомия	15	11,0	7	4,3	0,0222
Хирургическое лечение эндометриоза	29	21,3	34	20,7	0,5062

Доля пациенток с **первичным или вторичным бесплодием** не различалась в группах сравнения. Длительность бесплодия была статистически значимо выше в группе II по сравнению с группой I.

При оценке **акушерского анамнеза** отмечен низкий паритет и низкая гравидарность у пациенток, включенных в исследование. В структуре исходов беременностей в группе I преобладали самопроизвольные прерывания беременности (38,2%) и эктопические беременности (31,3%). В структуре исходов беременностей в группе II также преобладали самопроизвольные прерывания беременности (35,0%) и эктопические беременности (30,0%). Подробные данные представлены в таблице 8.

Таблица 8

Акушерский анамнез пациенток, включенных в исследование

	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	p**- уровень
Продолжительность бесплодия (лет)*	4 (2-5)	5 (3-7)	0,0155
Число пациенток с первичным бесплодием	77 (56,6%)	95 (57,9%)	0,4564
Число пациенток с вторичным бесплодием	59 (43,4%)	69 (42,1%)	
Общее число беременностей	102	120	
Число беременностей на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-1)	0,6770
Общее число беременностей после ЭКО	11	8	
Число беременностей после ЭКО на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,5012
Общее число своевременных родов	15	17	
Число своевременных родов на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,8763
Общее число преждевременных родов в сроке до 37 недель гестации	0	2	
Число преждевременных родов в сроке до 37 недель гестации на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,1987
Общее число самопроизвольных прерываний беременности до 22 недель гестации	39	42	
Число самопроизвольных прерываний беременности до 22 недель гестации на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,4467
Общее число искусственных прерываний беременности	16	23	
Число искусственных прерываний беременности на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,8289
Общее число эктопических беременностей	32	36	
Число эктопических беременностей на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-0)	0,4646
Общее число попыток ЭКО в анамнезе	80	116	
Число попыток ЭКО в анамнезе на 1 пациентку*	0 (0-0)	0 (0-1)	0,2754

* медиана (интерквартильный размах) ** тест Манна-Уитни

При оценке структуры **соматических заболеваний** не выявлено статистически значимых различий между группами (таблица 9).

Структура заболеваний легких была представлена хроническим бронхитом и бронхиальной астмой, а верхних дыхательных путей – хроническим тонзиллитом, хроническим фарингитом или хроническим трахеитом. В структуре сердечно-сосудистых заболеваний определяли пролапс митрального клапана и синусовую тахикардию. Среди заболеваний желудочно-кишечного тракта наблюдались хронический гастрит и хронический некалькулезный холецистит. Заболевания мочевыделительной системы были представлены хроническим циститом и мочекаменной болезнью. Среди заболеваний эндокринной системы определяли патологию щитовидной железы в виде гипотиреоза, в основном аутоиммунного генеза. К заболеваниям глаз относили аномалии рефракции.

Таблица 9

Структура соматических заболеваний в группах сравнения

Заболевания	Группа I (n=136)		Группа II (n=164)		Всего		p*-уровень
	n	%	n	%	n	%	
Заболевания легких	7	5,1	8	4,9	15	5,0	0,5605
Заболевания верхних дыхательных путей	23	16,9	24	14,6	47	15,7	0,3522
Заболевания сердечно-сосудистой системы	0	0	2	1,2	2	0,7	0,2982
Заболевания желудочно-кишечного тракта	16	11,8	15	9,1	31	10,3	0,2906
Заболевания мочевыделительной системы	9	6,6	11	6,7	20	6,7	0,5823
Эндокринные заболевания	21	15,4	22	13,4	43	14,3	0,4763
Заболевания глаз	3	2,2	7	4,3	10	3,3	0,2590
Аллергические заболевания	14	10,3	22	13,4	36	12,0	0,2598

* χ^2 тест

3.1.2. Лабораторная характеристика пациенток, включенных в исследование

При оценке результатов клинических анализов (клинический и биохимический анализ крови, гемостазиограмма, общий анализ мочи)

значимых различий в группах сравнения выявлено не было. Результаты флюорографии органов грудной клетки, УЗИ молочных желез, мазка на флору из влагалища, а также цитологического исследования шейки матки у всех исследуемых женщин были в пределах нормы и не отличались в изучаемых группах.

В таблице 10 представлены результаты гормонального обследования включенных в исследование пациенток.

При сравнении средних уровней основных гормонов гипофиза и стероидных гормонов не было выявлено значимых различий между группами.

Таблица 10

Результаты гормонального обследования пациенток, включенных в исследование

Показатели**	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	p*-уровень
ФСГ, мЕд/мл	6,8 ± 2,2	6,9 ± 2,3	0,6248
АМГ, нг/мл	4,4 ± 3,1	4,3 ± 3,3	0,2943
Прولاктин, мЕд/л	310,4 ± 141,6	332,5 ± 148,9	0,5465
ТТГ, мЕд/л	1,6 ± 0,7	1,7 ± 0,7	0,6104
Эстрадиол, пмоль/л	139,8 ± 79,4	147,0 ± 71,4	0,1958

* t-тест ** среднее ± стандартное отклонение

3.1.3. Параметры протокола овариальной стимуляции в группах сравнения

У большинства пациенток для овариальной стимуляции были использованы препараты рекомбинантного ФСГ, частота назначения различных гонадотропинов не различалась в группах сравнения. Длительность овариальной стимуляции, стартовая и суммарная доза гонадотропинов не различались в группах сравнения. Частота замены триггера овуляции (в ряде случаев с целью финального созревания ооцитов использовали комбинацию аГнРГ с низкой дозой ХГЧ) также была сравнима в группах (таблица 11).

Особенности изученного протокола овариальной стимуляции

Показатель	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	P*
Наличие ЛГ-компонента			
ЛГ компонент -	105 (77,2%)	124 (75,6%)	0,4275
ЛГ компонент +	31 (22,8%)	40 (24,4%)	
Длительность овариальной стимуляции, дней**	9,1 ± 1,5	9,0 ± 1,3	0,1145
Суммарная доза гонадотропинов, МЕ**	1415 ± 350	1400 ± 330	0,1678
Триггер овуляции			
ХГЧ	92 (67,7%)	103 (62,8%)	0,1573
ХГЧ+аГнРГ	44 (32,3%)	61 (37,2%)	

* χ^2 -тест для сравнения категориальных данных/t-тест для сравнения непрерывных данных

** среднее ± стандартное отклонение

3.1.4. Характеристика параметров фолликуло-, оо- и раннего эмбриогенеза в группах сравнения

На следующем этапе была проведена оценка параметров фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза у пациенток в группах сравнения. Медиана числа фолликулов, ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК), зрелых ооцитов (стадия М2) и незрелых ооцитов (стадия М1 и GV) не различались статистически в группах сравнения.

Частота встречаемости различных цитоплазматических дисморфизмов не различалась в группах (таблица 12).

Параметры фолликулогенеза и оогенеза в группах сравнения

	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	P*
Число фолликулов**	10 (6-23)	10 (6-14)	0,8682
Число ОКК**	8 (6-12)	9 (5-13)	0,7434
Число ооцитов на стадии M2**	7 (4-10)	6 (4-10)	0,5432
Число ооцитов на стадии M1/GV**	1 (0-2)	1 (0-3)	0,1942
Доля ооцитов на стадии M2**	0,85 (0,75-1,00)	0,80 (0,67-1,00)	0,1095
Цитоплазматические дисморфизмы ооцитов,	16 (11,8%)	22 (13,4%)	0,4022
Патология ПВП ооцитов, n (%)	16 (11,8%)	25 (15,2%)	0,2412

* χ^2 -тест для сравнения категориальных данных/тест Манна-Уитни для сравнения непрерывных данных

** медиана (интерквартильный размах)

При оценке параметров **раннего эмбриогенеза** отмечено, что медиана числа зигот и медиана уровня фертилизации (отношение числа зигот с нормальным оплодотворением к числу зрелых ооцитов) были сравнимы в группах. Число пациенток с уровнем фертилизации >90% было несколько выше в подгруппе пациенток с наступившей беременностью, однако данные различия не достигли статистической значимости. Число бластоцист отличного качества, и, следовательно, уровень бластуляции (отношение числа бластоцист к числу зигот) были значимо выше в группе пациенток, у которых беременность в изученном цикле ВРТ наступила. Медиана уровня бластуляции составила 0,50 в группе I и 0,33 в группе II ($p < 0,0001$). В результате в группе пациенток с наступившей беременностью было больше пациенток с высоким уровнем бластуляции ($\geq 30\%$): 79,4% в группе I против 57,9% в группе II ($p < 0,0001$). Число бластоцист отличного качества также было выше в группе I: 2 (1-4) в группе I по сравнению с 1 (0-3) в группе II, $p < 0,0001$.

Полученные различия, вероятно, обусловлены тем, что данные показатели раннего эмбриогенеза характеризуют качество эмбрионов, полученных в цикле ВРТ. Соответственно, пациентки с более высоким качеством эмбрионов имеют более высокую эффективность ВРТ. Подробные данные представлены в таблице 13.

Таблица 13

Параметры раннего эмбриогенеза в группах сравнения

	Группа I (n=136)	Группа II (n=164)	P*
Число зигот**	6 (4-9)	6 (4-9)	0,2621
Уровень фертилизации, %**	100 (86-100)	100 (80-100)	0,1370
Уровень фертилизации $\geq 90\%$	96 (70,6%)	101 (61,6%)	0,0650
Уровень фертилизации $< 90\%$	40 (29,4%)	63 (38,4%)	
Число бластоцист**	3 (2-4)	2 (1-3)	<0,0001
Уровень бластуляции**	0,50 (0,33-0,67)	0,33 (0,15-0,50)	<0,0001
Уровень бластуляции $\geq 30\%$	108 (79,4%)	95 (57,9%)	<0,0001
Уровень бластуляции $< 30\%$	28 (20,6%)	69 (42,1%)	
Число бластоцист отличного качества**	2 (1-4)	1 (0-3)	<0,0001

* χ^2 -тест для сравнения категориальных данных/тест Манна-Уитни для сравнения непрерывных данных

** медиана (интерквартильный размах)

Таким образом, при сравнении клиничко-anamнестических и лабораторных данных пациенток с различными исходами цикла ВРТ были отмечены следующие различия. Частота ИППП в анамнезе была погранично значимо выше в группе пациенток, у которых беременность не наступила: 30,5% против 22,8%, $p=0,0861$. Частота миомы матки была выше в группе пациенток с наступившей беременностью: 14,7% против 7,3%, $p=0,0030$. Соответственно, пациентки с наступившей беременностью чаще имели в анамнезе оперативное лечение миомы

матки: 11,0% против 4,3%, $p=0,0222$. Параметры цикла овариальной стимуляции не различались в группах сравнения.

Также не было выявлено различий при оценке параметров фолликуло- и оогенеза. При оценке параметров раннего эмбриогенеза отмечено более высокое число бластоцист и бластоцист отличного качества, и, соответственно, более высокий уровень бластуляции в группе пациенток с наступившей беременностью. Медиана уровня бластуляции составила 0,50 в группе I и 0,33 в группе II ($p < 0,0001$).

3.1.5. Клинические результаты циклов ВРТ

Проведена оценка клинических результатов изученных 300 циклов ВРТ. Клиническая беременность зарегистрирована у 136 пациенток (45,3%). У 28 пациенток (28/136, 20,6%) беременность завершилась самопроизвольным прерыванием в I триместре. У 108 пациенток (108/136, 79,4%) беременность завершилась своевременными родами. Случаев прерывания беременности во II триместре или преждевременных родов зарегистрировано не было. Все беременности были одноплодными, всего родилось 108 детей, 57 мальчиков и 51 девочка. Все дети родились живыми, без видимых пороков развития.

Также проанализировали кумулятивную частоту родов. **При отсутствии наступления беременности** при переносе нативного эмбриона в полость матки и **наличии криоконсервированных эмбрионов** проводили перенос размороженного эмбриона в полость матки.

Из 164 пациенток, у которых в изученном цикле ВРТ беременность не наступила, у 92 пациенток (56,1%) производили криоконсервацию оставшихся эмбрионов. Соответственно, в дальнейшем было проведено 92 цикла переноса размороженного эмбриона в полость матки. Было зарегистрировано 42 случая наступления клинической беременности (42/92, 45,6%). У 7 пациенток (7/42, 16,7%) беременность завершилась самопроизвольным прерыванием в I

триместре. У 35 пациенток беременность завершилась своевременными родами, родилось 35 живых детей, без видимых аномалий развития (рис. 4).

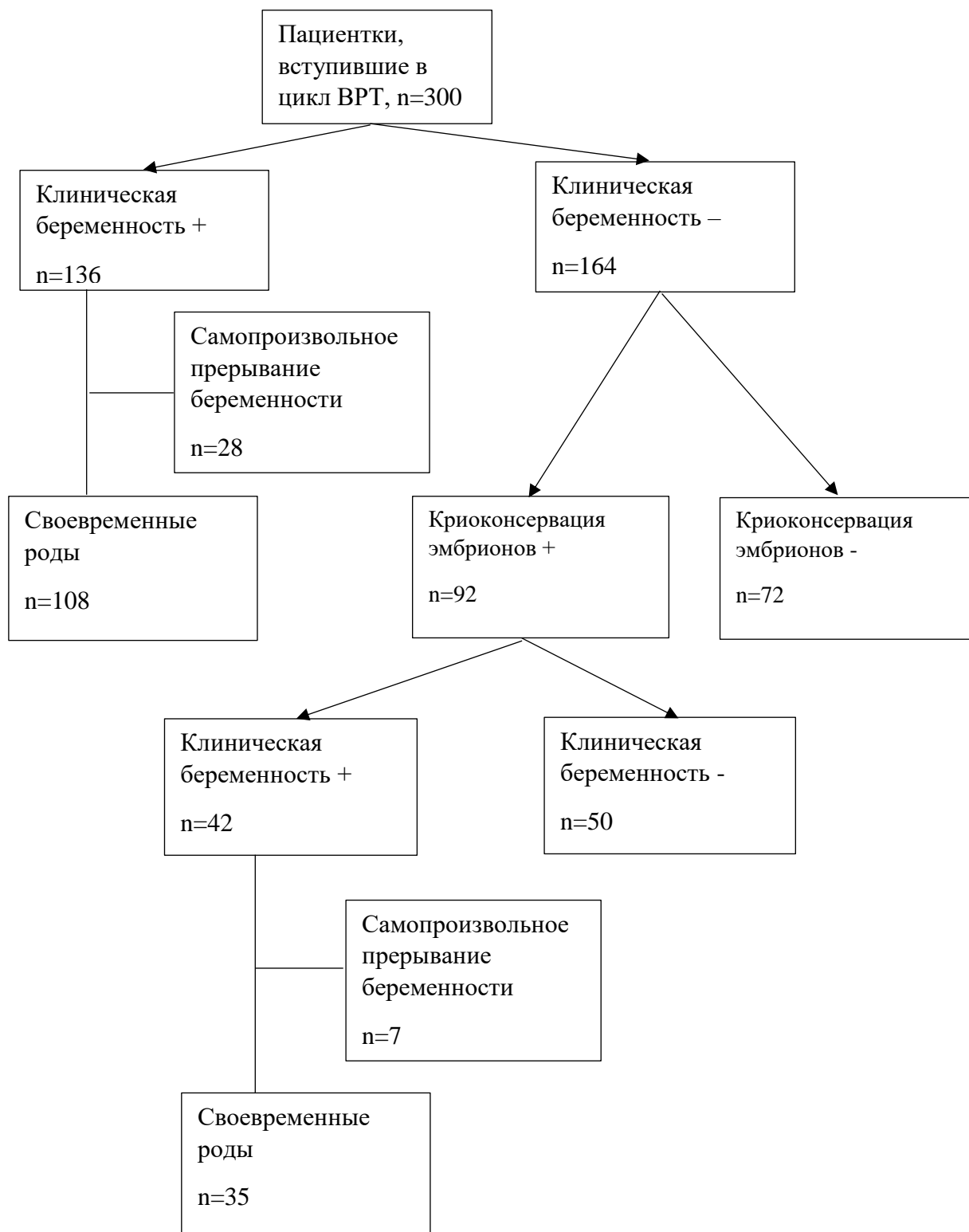


Рисунок 4. Схема оценки клинических результатов ВРТ

3.2.1. Содержание антропогенных химических веществ в организме пациенток с бесплодием

Далее была проведена оценка содержания различных АХВ (тяжелых металлов и органических соединений) в организме 300 пациенток, включенных в исследование.

Тяжелые металлы (ртуть, свинец, кадмий) определялись у 100% пациенток, данные представлены в таблице 14.

Таблица 14

Уровень тяжелых металлов в крови пациенток

	Минимум	Максимум	Медиана	Интерквартильный размах
Кадмий, мкг/л	0,100	3,669	0,317	0,230-0,451
Ртуть, мкг/л	0,055	11,760	0,805	0,413-1,447
Свинец, мкг/л	4,177	192,623	9,856	7,715-13,594

При проведении корреляционного анализа отмечено, что уровень ртути находился в положительной корреляционной связи с уровнем свинца ($r=0,1358$, $p=0,0186$), уровень кадмия не имел значимой корреляционной связи с другими металлами (рисунок 5).

Стирол, так же, как и тяжелые металлы, был обнаружен в образцах крови всех пациенток, включенных в исследование. Бисфенол А был обнаружен в 92,0% (276/300) образцах крови и в 16,8% (49/291) образцах фолликулярной жидкости пациенток.

Уровень бисфенола А в крови не имел связи с уровнем бисфенола А в фолликулярной жидкости ($p=0,3791$) и с уровнем стирола в крови ($p=0,2492$). Также уровни органических соединений не имели корреляционной связи с уровнем тяжелых металлов у одних и тех же пациенток.

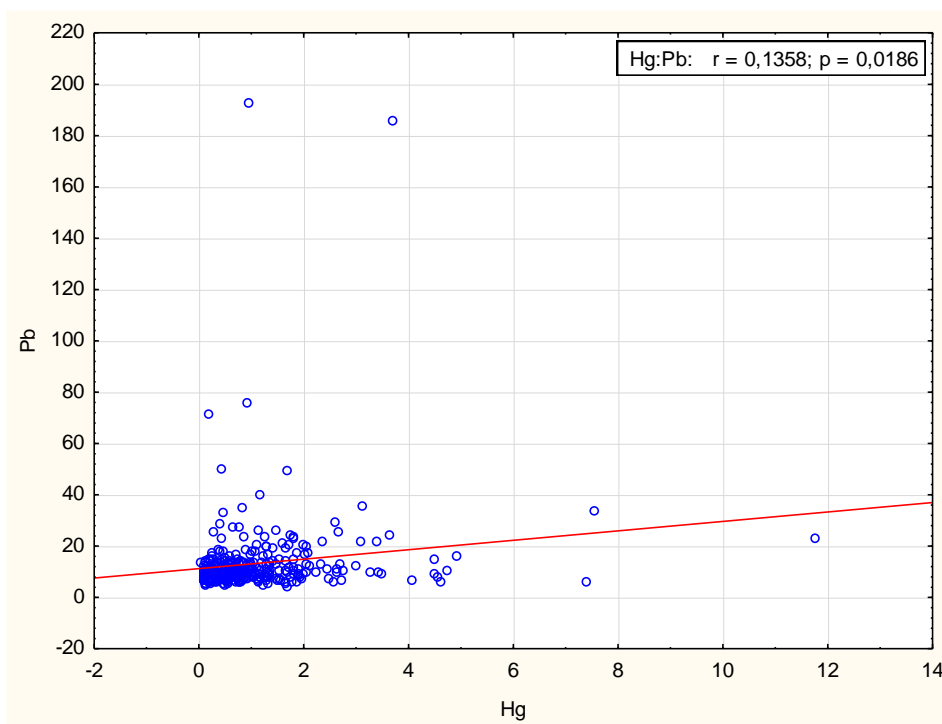


Рис. 5. Корреляция между уровнем ртути и свинца в крови пациенток

Таблица 15

Уровень органических веществ в организме пациенток

	Минимум	Максимум	Медиана	Интерквартильный размах
БФА в крови, нг/мл	0	56,43	0,52	0,19-0,66
БФА в ФЖ, нг/мл	0	1,90	0	0-0
Стирол в крови, нг/мл	1,30	52,5	8,85	5,65-13,5

3.2.2. Оценка суммарного уровня АХВ и разделение пациенток на группы

Была разработана условная шкала для оценки суммарного уровня АХВ в организме. В случае, если уровень вещества превышал медианный уровень – присваивался 1 балл, верхний квартиль – 2 балла, 97,5 перцентиль – 3 балла (таблица 16). В случае, если уровень вещества не превышал медианный уровень, пациентке присваивали 0 баллов. Таким образом, каждой пациентке

было присвоено определенное количество баллов, **возможный диапазон** числа баллов составил от 0 до 15 баллов. В нашей выборке пациенток число баллов находилось в диапазоне от 0 до 10 баллов.

Таблица 16

Шкала оценки суммарного уровня АХВ в крови пациентки

	<50%, 0 баллов	≥50 %, 1 балл	≥75 %, 2 балла	≥97,5%, 3 балла
Свинец, мкг/л	<9,85	9,85	13,59	35,36
Кадмий, мкг/л	<0,32	0,32	0,45	1,45
Ртуть, мкг/л	<0,81	0,81	1,44	4,50
БФА, нг/мл	<0,52	0,52	0,66	12,65
Стирол, нг/мл	<8,85	8,85	13,5	31,5

Затем пациентки были разделены на группы в зависимости от уровня поллютантов: группу 1 (**высокий уровень АХВ**) составили 109 пациенток, имеющих уровень баллов выше медианы (**5 и более баллов**), группу 2 (**низкий уровень АХВ**) составила 191 пациентка, имеющая уровень баллов ниже медианы (**4 и менее балла**).

Таблица 6

Корреляционный анализ уровня баллов различных АХВ

	Кадмий, баллы	Ртуть, баллы	Свинец, баллы	БФА, баллы	Стирол, баллы
Кадмий, баллы	1	r= 0,1540 p= 0,0070	r= 0,2782 p= 0,0001	r= 0,0180 p= 0,7556	r= -0,0453 p= 0,4465
Ртуть, баллы	r= 0,1540 p= 0,0070	1	r = 0,1759 p= 0,0020	r= -0,0135 p= 0,8275	r= -0,0155 p=0,7912
Свинец, баллы	r= 0,2782 p= 0,0001	r = 0,1759 p= 0,0020	1	r= 0,0040 p= 0,9382	r= -0,0485 p= 0,4121
БФА, баллы	r= 0,0180 p= 0,7556	r= -0,0135 p= 0,8275	r= 0,0040 p= 0,9382	1	r= -0,0334 p= 0,5682
Стирол, баллы	r= -0,0453 p= 0,4465	r= -0,0155 p=0,7912	r= -0,0485 p= 0,4121	r= -0,0334 p= 0,5682	1

r-коэффициент Пирсона

Отмечена положительная корреляционная связь между уровнем баллов всех трех тяжелых металлов. При этом уровень баллов стирола не имел связи с уровнем баллов бисфенола А, как и баллы уровней органических соединений не имели связи с уровнем металлов.

3.2.3. Создание опросника для определения влияния особенностей образа жизни на содержание АХВ в организме пациенток

Анкета для определения влияния особенностей образа жизни на содержание АХВ в организме человека была создана авторами исследования на основании анализа данных литературы [249–252].

Перед использованием анкета была одобрена психологом и социологом. Затем проект анкеты прошел пилотное тестирование: было опрошено 15 женщин, не принимавших участие в данном исследовании. Пилотное тестирование проводилось для того, чтобы убедиться, что вопросы и варианты ответов в анкете понятны для пациенток, анкета не содержит этических и культурных противоречий, а ее использование удобно для участников исследования и интервьюера. Затем проведено анкетирование пациенток. Образец анкеты, а также подробные данные о результатах анкетирования представлены в приложении (часть 1).

В данном разделе присутствуют основные данные об ассоциации между результатами анкеты и уровнями отдельных АХВ (таблица 7).

Курящие пациентки имели значительное более высокое содержание тяжелых металлов в организме, при этом медиана уровня металлов была максимальной у пациенток, которые курили на момент проведения исследования, затем у экс-курильщиков, и минимальные значения наблюдались у пациенток, которые никогда не курили.

Употребление **алкоголя** не было связано статистически с содержанием различных АХВ у исследуемых пациенток.

Пациентки, **употреблявшие рыбу** чаще, чем 1-2 раза в неделю, имели более высокое содержание ртути и свинца в организме.

Более частое употребление **консервированных продуктов** (из жестяных банок) было связано с повышением содержания кадмия и свинца, а также БФА и стирола в организме пациенток.

Пациентки, употреблявшие **готовую еду** чаще, чем 1-2 раза в неделю, имели значительное более высокое содержание всех АХВ. Максимальные уровни всех АХВ наблюдались у пациенток, употреблявших готовую еду чаще, чем 3 раза в неделю.

Пациентки, использующие **микроволновую печь** для разогревания продуктов, находящихся **в пластиковой посуде**, имели более высокие уровни всех АХВ, максимальные уровни веществ наблюдались в подгруппе пациенток, разогревающих продукты чаще, чем 1 раз в неделю.

Более частое употребление **напитков из пластиковых бутылок** было ассоциировано с повышенным содержанием органических АХВ – бисфенола А и стирола. Минимальные уровни данных АХВ наблюдали у пациенток, не употреблявших напитки из пластиковых бутылок, далее повышение кратности употребления было связано с увеличением медианы данных веществ.

Пациентки, указавшие в качестве **основного источника питьевой воды** фильтрованную воду, имели минимальные значения всех АХВ. Пациентки, чаще употреблявшие бутилированную воду, имели более высокие уровни органических веществ – стирола и БФА, а пациентки, чаще употреблявшие водопроводную воду, имели более высокий уровень кадмия.

Пациентки, имеющие **высокую физическую активность** (активная работа, 3 и более спортивных тренировок в неделю), имели наименьший уровень свинца и стирола в организме. Напротив, пациентки, которые охарактеризовали свою физическую активность как низкую (сидячая работа, нет спортивных нагрузок) или среднюю (1-2 спортивных тренировки в неделю), имели более высокий уровень данных АХВ в крови.

Период постройки жилого дома не был связан с уровнем АХВ у изученной группы пациенток. Пациентки, проживающие на 1-4 этажах, имели более высокий медианный уровень свинца, по сравнению с пациентками, живущими на более высоких этажах. Пациентки, которые постоянно проживают за пределами города, имели более высокий медианный уровень стирола.

Более частое использование **наличных денежных средств** было ассоциировано с более высоким медианным уровнем тяжелых металлов – свинца и кадмия. Напротив, пациентки, которые редко пользовались наличными денежными средствами, имели более низкий уровень данных металлов.

При оценке **основных условий работы** отмечено, что пациентки, которые постоянно находятся в маленьком кабинете на рабочем месте, имеют более высокий уровень свинца и погранично более высокий уровень стирола в организме. При этом при сравнении содержания АХВ у пациенток, работающих в помещении, но в открытом пространстве, работающих дома и работающих на свежем воздухе, различий не было найдено.

Пациентки, проводившие минимальное время **на свежем воздухе** (менее 1 часа в день) имели более высокий уровень кадмия и погранично более высокий уровень свинца.

Таблица 7

Ассоциация между данными анкетирования и содержанием АХВ в организме исследуемых пациенток

	Кадмий, мкг/л	Свинец, мкг/л	Ртуть, мкг/л	БФА, нг/мл	Стирол, нг/мл
<i>Курение</i>					
Никогда не курила	0,28 (0,21- 0,37)	9,07 (7,01- 11,91)	0,72 (0,36- 1,32)	0,52 (0,17- 0,62)	8,45 (5,55- 12,60)
Курила ранее, сейчас не курю	0,35 (0,24- 0,53)	10,63 (8,06- 14,51)	0,85 (0,46- 1,60)	0,53 (0,22- 0,71)	9,50 (5,80- 14,40)

Курю в настоящее время	0,63 (0,48-0,87)	12,86 (10,77-17,52)	1,14 (0,73-2,45)	0,52 (0,34-0,80)	9,00 (6,90-13,50)
P*	<0,0001	0,0001	0,0212	0,3932	0,4031
Употребление алкоголя					
<1 раз в месяц	0,29 (0,21-0,41)	9,57 (7,31-12,80)	0,69 (0,33-1,31)	0,53 (0,20-0,66)	8,30 (5,20-14,40)
1-2 раза в месяц	0,33 (0,23-0,49)	10,09 (7,93-14,25)	0,92 (0,45-1,70)	0,52 (0,19-0,69)	9,50 (6,10-13,20)
1-2 раза в неделю	0,32 (0,25-0,51)	9,78 (6,92-13,83)	1,21 (0,93-2,05)	0,43 (0,12-0,56)	8,15 (5,30-15,10)
>3 раз в неделю	0	0	0	0	0
P*	0,2009	0,3600	0,1231	0,2259	0,7226
Употребление рыбы					
<1 раз в месяц	0,28 (0,22-0,40)	10,01 (7,87-12,58)	0,62 (0,20-0,96)	0,53 (0,15-0,62)	7,20 (5,10-11,50)
1-2 раза в месяц	0,29 (0,22-0,44)	9,68 (7,50-13,40)	0,77 (0,38-1,35)	0,52 (0,20-0,65)	8,70 (5,80-13,10)
1-2 раза в неделю	0,36 (0,24-0,52)	10,27 (7,96-15,82)	1,13 (0,69 - 1,71)	0,52 (0,21-0,68)	10,27 (7,96-15,82)
>3 раз в неделю	0,34 (0,20-0,62)	10,89 (8,02-13,68)	0,78 (0,51-2,45)	0,88 (0,61-1,26)	12,95 (9,70-14,70)
P*	0,1503	0,1256	<0,0001	0,0852	0,1312
Употребление консервированных продуктов					
<1 раз в месяц	0,28 (0,21-0,39)	9,55 (7,43-12,57)	0,71 (0,35-1,35)	0,47 (0,17-0,62)	8,50 (5,50-13,10)
1-2 раза в месяц	0,30 (0,23-0,43)	9,24 (7,64-13,56)	0,83 (0,45-1,54)	0,52 (0,22-0,62)	8,05 (5,20-13,05)
1-2 раза в неделю	0,45 (0,29-0,65)	12,02 (9,60-17,29)	0,95 (0,51-1,51)	0,56 (0,38-0,82)	11,30 (7,30-17,30)
>3 раз в неделю	0,44 (0,27-0,74)	12,58 (7,56-18,16)	0,90 (0,21-2,32)	0,71 (0,52-0,98)	13,00 (9,70-15,40)
P*	<0,0001	0,0010	0,3676	0,0021	0,0328
Употребление готовой еды					
<1 раз в месяц	0,29 (0,20-0,41)	9,28 (7,43-12,74)	0,70 (0,39-1,31)	0,46 (0,17-0,59)	7,75 (5,00-11,70)

1-2 раза в месяц	0,31 (0,25-0,38)	9,56 (7,43-13,44)	0,77 (0,39-1,33)	0,48 (0,15-0,59)	9,45 (5,80-14,10)
1-2 раза в неделю	0,32 (0,23-0,49)	11,38 (8,93-14,77)	1,20 (0,68-1,83)	0,55 (0,28-0,69)	11,30 (7,90-14,40)
>3 раз в неделю	0,44 (0,25-0,59)	10,89 (7,98-17,46)	0,90 (0,43-1,35)	0,75 (0,55-2,31)	9,80 (6,30-18,20)
P*	0,0281	0,0095	0,0387	<0,0001	0,0034
<i>Разогревание пластиковой посуды в микроволновой печи</i>					
<1 раз в месяц	0,28 (0,20-0,39)	9,10 (7,43-12,80)	0,71 (0,39-1,30)	0,46 (0,16-0,60)	7,50 (4,80-11,70)
1-2 раза в месяц	0,32 (0,26-0,44)	10,20 (7,92-13,54)	0,76 (0,38-1,40)	0,45 (0,12-0,58)	10,70 (7,20-14,65)
1-2 раза в неделю	0,32 (0,23-0,50)	10,44 (8,06-14,59)	1,12 (0,71-1,93)	0,61 (0,52-0,86)	9,50 (6,70-15,10)
>3 раз в неделю	0,37 (0,28-0,58)	10,54 (8,15-16,86)	0,95 (0,39-1,66)	0,61 (0,42-0,95)	10,90 (6,50-17,90)
P*	0,0054	0,0808	0,0150	<0,0001	0,0009
<i>Употребление напитков из пластиковых бутылок</i>					
<1 раз в месяц	0,28 (0,21-0,39)	9,35 (7,43-13,13)	0,77 (0,39-1,47)	0,47 (0,19-0,60)	7,00 (4,60-10,60)
1-2 раза в месяц	0,34 (0,23-0,52)	9,59 (7,85-13,51)	0,77 (0,43-1,33)	0,52 (0,21-0,63)	9,20 (6,40-14,10)
1-2 раза в неделю	0,32 (0,23-0,49)	10,16 (7,99-13,62)	0,95 (0,32-1,68)	0,56 (0,18-0,73)	11,30 (7,90-17,30)
>3 раз в неделю	0,32 (0,25-0,55)	10,89 (9,13-14,39)	0,86 (0,51-1,40)	0,58 (0,23-0,84)	10,90 (6,20-15,40)
P*	0,1362	0,1891	0,8070	0,0545	<0,0001
<i>Основной источник питьевой воды</i>					
Водопровод	0,34 (0,25-0,51)	10,39 (8,31-14,03)	0,84 (0,51-1,39)	0,46 (0,19-0,60)	8,65 (5,20-13,70)
Фильтр	0,28 (0,22-0,39)	9,38 (7,04-12,58)	0,77 (0,38-1,58)	0,50 (0,15-0,58)	8,30 (5,50-11,70)
Бутылки	0,31 (0,22-0,51)	9,94 (7,91-14,32)	0,80 (0,36-1,35)	0,60 (0,42-0,82)	10,60 (6,80-16,30)
P*	0,0625	0,0049	0,6766	0,0002	0,0454
<i>Уровень физической активности</i>					
Низкая	0,33 (0,24-0,49)	10,46 (7,97-14,03)	0,85 (0,33-1,47)	0,53 (0,27-0,66)	10,75 (6,40-15,40)

Средняя	0,30 (0,22-0,41)	9,56 (7,70-13,47)	0,79 (0,46-1,35)	0,48 (0,17-0,65)	8,10 (5,50-12,20)
Высокая	0,25 (0,22-0,37)	8,74 (6,49-10,70)	0,70 (0,40-1,37)	0,51 (0,19-0,72)	5,30 (4,10-10,90)
P*	0,0941	0,0137	0,6554	0,2519	0,0012
Период постройки дома					
1990 г или позже	0,28 (0,20-0,37)	10,10 (7,48-13,03)	0,81 (0,39-1,46)	0,51 (0,17-0,62)	8,70 (5,80-13,30)
1969-1989 гг	0,34 (0,25-0,53)	9,73 (7,86-13,85)	0,85 (0,47-1,49)	0,53 (0,21-0,68)	9,15 (5,20-13,40)
до 1969 г	0,32 (0,19-0,49)	8,84 (7,04-10,72)	0,79 (0,45-1,30)	0,52 (0,15-0,74)	12,20 (6,70-19,50)
P*	0,1376	0,4064	0,1478	0,3279	0,3406
Этаж проживания					
1-4 этаж	0,34 (0,23-0,51)	10,81 (7,98-14,40)	0,83 (0,39-1,53)	0,53 (0,23-0,74)	9,70 (6,00-14,70)
5-9 этаж	0,30 (0,23-0,41)	9,07 (7,38-11,80)	0,78 (0,45-1,34)	0,53 (0,23-0,64)	8,80 (5,45-14,30)
>10 этаж	0,29 (0,22-0,39)	9,57 (7,82-12,35)	0,73 (0,38-1,46)	0,51 (0,23-0,56)	7,70 (5,70-11,30)
P*	0,2281	0,0075	0,9586	0,2239	0,1118
Место проживания					
Город	0,32 (0,23-0,49)	10,01 (7,84-14,39)	0,85 (0,43-1,37)	0,52 (0,21-0,72)	9,60 (6,00-13,90)
За пределами города	0,31 (0,24-0,44)	9,51 (6,92-12,80)	0,60 (0,20-0,93)	0,46 (0,15-0,58)	10,90 (8,00-16,80)
50%/50%	0,30 (0,23-0,39)	9,58 (7,53-12,08)	0,77 (0,38-1,67)	0,53 (0,18-0,59)	9,58 (7,53-12,08)
P*	0,4676	0,3702	0,1912	0,1365	0,0363
Использование наличных денежных средств					
<1 раз в месяц	0,27 (0,20-0,42)	9,72 (7,48-11,95)	0,78 (0,41-1,28)	0,51 (0,15-0,60)	8,80 (5,10-14,40)
1-2 раза в месяц	0,30 (0,22-0,41)	9,10 (7,23-13,07)	0,86 (0,50-1,58)	0,51 (0,18-0,71)	8,80 (5,50-13,00)
1-2 раза в неделю	0,37 (0,27-0,62)	10,77 (8,84-16,88)	0,92 (0,49-1,83)	0,57 (0,35-0,72)	9,70 (6,90-14,20)

>3 раз в неделю	0,34 (0,24-0,54)	12,21 (9,51-14,59)	0,79 (0,38-1,15)	0,53 (0,20-0,65)	8,00 (6,00-13,30)
P*	0,0022	0,0019	0,1221	0,2340	0,5229
<i>Основные условия работы</i>					
Маленький кабинет	0,35 (0,23-0,51)	10,97 (8,86-14,49)	0,89 (0,63-1,84)	0,53 (0,22-0,74)	10,30 (6,45-14,75)
Опен-спейс	0,38 (0,25-0,46)	9,10 (7,23-11,57)	0,77 (0,39-1,35)	0,54 (0,20-0,65)	8,25 (5,10-13,00)
На свежем воздухе	0,41 (0,25-0,42)	9,51 (6,16-16,30)	0,72 (0,65-1,31)	0,58 (0,00-2,28)	09,00 (8,00-12,20)
Работаю дома	0,33 (0,20-0,44)	8,93 (6,91-12,83)	0,79 (0,42-1,02)	0,45 (0,17-0,59)	7,80 (5,20-12,20)
P*	0,1981	0,0007	0,1376	0,1768	0,0559
<i>Пребывание на свежем воздухе</i>					
< 1 часа	0,35 (0,27-0,58)	10,99 (8,93-14,25)	0,95 (0,32-1,54)	0,53 (0,35-0,69)	9,30 (5,70-13,30)
1-3 часов	0,29 (0,22-0,42)	9,27 (7,53-13,26)	0,76 (0,42-1,36)	0,52 (0,16-0,63)	8,70 (5,65-14,10)
4-7 часов	0,25 (0,21-0,34)	10,21 (6,83-12,63)	0,71 (0,49-1,60)	0,45 (0,17-0,81)	8,90 (4,80-12,60)
>8 часов	0,25	9,51	1,31	0,58	8,00
P*	0,0066	0,0511	0,8681	0,2340	0,9231

Данные представлены как медиана (интерквартильный размах); * тест Краскела-Уаллиса.

Таким образом, были выявлены факторы образа жизни, ассоциированные с повышенным уровнем АХВ у изученных пациенток:

- *Курение ассоциировано с повышенным уровнем кадмия, свинца и ртути;*
- *Частое употребление рыбы (>1 раза в неделю) ассоциировано с повышенным уровнем ртути;*
- *Частое употребление консервированных продуктов из жестяных банок (>1 раза в неделю) ассоциировано с повышенным уровнем свинца, кадмия, БФА и стирола;*

• *Частое употребление готовой еды (>1 раза в неделю) и разогревание пластиковой посуды в микроволновой печи ассоциировано с повышенным уровнем свинца, кадмия, ртути, БФА и стирола;*

• *Частое употребление напитков из пластиковых бутылок (>1 раза в неделю) ассоциировано с повышенным уровнем стирола и БФА;*

• *Использование бутилированной воды в качестве основного источника питьевой воды ассоциировано с повышенным уровнем БФА и стирола, а использование водопроводной воды – с повышенным уровнем свинца;*

• *Низкая физическая активность (сидячая работа, отсутствие спортивных нагрузок) ассоциировано с повышенным уровнем свинца и стирола;*

• *Проживание на 1-4 этажах ассоциировано с повышенным уровнем свинца, а постоянное проживание за городом – с повышенным уровнем стирола;*

• *Частое использование наличных денежных средств (>1 раза в неделю) ассоциировано с повышенным уровнем кадмия и свинца;*

• *Работа в условиях закрытого помещения и небольшого кабинета ассоциирована с повышенным уровнем свинца;*

• *Ежедневное пребывание на свежем воздухе <1 часа ассоциировано с повышенным уровнем кадмия.*

3.3. Клинико-anamнестическая характеристика пациенток в зависимости от уровня АХВ в крови

Средний **возраст пациенток** составил $31,6 \pm 3,3$ лет в группе 1 и $31,3 \pm 3,2$ лет в группе 2 ($p=0,4636$). В подгруппе пациенток до 30 лет 36,6% ($n=34$) имели высокий уровень АХВ, в подгруппе пациенток в возрасте от 30 до 34 лет 35,0% ($n=50$) имели высокий уровень АХВ, в подгруппе пациенток в возрасте 35 лет и старше 39,1% ($n=25$) имели высокий уровень АХВ ($p=0,8508$).

При оценке **антропометрических характеристик** (рост, масса тела, индекс массы тела) отмечено, что средний рост пациенток не различался в группах. Средний вес пациенток был выше в группе пациенток с высоким уровнем АХВ ($62,7 \pm 7,6$ кг против $61,6 \pm 7,6$ кг, $p=0,0164$, t-тест), однако средние показатели ИМТ также не различались в группах сравнения ($21,9 \pm 2,3$ в группе 1, $21,9 \pm 2,4$ в группе 2, $p=0,9183$). Избыточную массу тела ($ИМТ \geq 25,0$ кг/м²) имели 12 пациенток (11,0%) в группе с высоким уровнем АХВ и 27 пациенток (14,1%) в группе с низким уровнем АХВ.

При оценке **гинекологической заболеваемости и структуры гинекологических оперативных вмешательств в анамнезе** не выявлено статистически значимых различий в группах сравнения.

В группе пациенток с высоким уровнем АХВ наблюдалась значимо более высокая доля пациенток с **первичным бесплодием**: 48,6% против 37,7%, $p=0,0150$. **Длительность бесплодия** не различалась в группах.

При оценке **акушерского анамнеза** отмечен низкий паритет и низкая гравидарность у пациенток, включенных в исследование. Медианные показатели как общего числа беременностей, так и различных исходов беременностей, не различались в группах сравнения.

Число циклов ВРТ в анамнезе не различалось в группах.

При оценке структуры **соматических заболеваний** отмечена тенденция к повышению частоты аллергических заболеваний у пациенток с высоким уровнем АХВ: 16,5% против 9,4%, $p=0,0535$. Других различий выявлено не было.

Таким образом, при анализе клинико-анамнестических характеристик отмечены следующие различия: для пациенток с высоким уровнем АХВ характерна большая распространённость первичного бесплодия (48,6% против 37,7%, $p=0,0150$) и более высокая средняя масса тела ($62,7 \pm 7,6$ против $61,6 \pm 7,6$, $p=0,0164$). В группе пациенток с высоким уровнем АХВ чаще встречались аллергические заболевания (16,5% против 9,4%, $p=0,0535$).

3.4. Характеристика параметров фолликуло-, оо- и раннего эмбриогенеза в зависимости от уровня АХВ

На следующем этапе была проведена оценка параметров фолликулогенеза, оогенеза и раннего эмбриогенеза. Медиана числа фолликулов, ооцит-кумулюсных комплексов, зрелых ооцитов и незрелых ооцитов не различались статистически в группах сравнения. Соотношение между числом зрелых ооцитов и общим числом ооцитов было несколько выше в группе пациенток с низким уровнем АХВ, однако различия не были статистически значимыми (таблица 8).

При оценке параметров **раннего эмбриогенеза** отмечено, что медиана числа зигот и медиана уровня фертилизации были сравнимы в группах. Соответственно, число пациенток с высоким ($\geq 90\%$) и низким ($< 90\%$) уровнем фертилизации не различалось в группах.

Таблица 8

Параметры фолликулогенеза и оогенеза в группах сравнения

	Группа 1 (n=109)	Группа 2 (n=191)	P*
Число фолликулов**	10 (6-14)	10 (6-14)	0,5407
Число ОКК**	8 (5-13)	8 (5-12)	0,7221
Число ооцитов на стадии M2**	6 (4-10)	7 (4-10)	0,9503
Число ооцитов на стадии M1/GV**	1 (0-3)	1 (0-2)	0,4391
Доля ооцитов на стадии M2**	0,81 (0,66-1,00)	0,86 (0,71-1,0)	0,3506
Цитоплазматические дисморфизмы ооцитов	12 (11,0%)	26 (13,6%)	0,3225
Патология ПВП ооцитов	16 (14,7%)	25 (13,1%).	0,4122

* χ^2 -тест для сравнения категориальных данных/тест Манна-Уитни для сравнения непрерывных данных

** медиана (интерквартильный размах)

Число бластоцист отличного качества и уровень бластуляции были значимо выше в группе пациенток с низким уровнем АХВ. Медиана уровня бластуляции составила 0,33 в группе пациенток с высоким уровнем АХВ и 0,50 в группе пациенток с низким уровнем АХВ ($p=0,0004$). В результате в группе пациенток с высоким уровнем АХВ было больше пациенток с низким уровнем бластуляции (<30%): 38,5% против 28,8%, $p=0,0556$. **Относительный риск низкого уровня бластуляции** в группе пациенток с высоким уровнем АХВ составил **1,34 (95% ДИ 0,97; 1,85)**.

Частота отсутствия дробления эмбрионов была несколько выше в группе пациенток с высоким уровнем АХВ (14,7% против 10,5%), однако различия не были статистически значимы. При наличии 2-х и более бластоцист на 5-6 сутки культивирования эмбрионов производили витрификацию оставшихся эмбрионов. Число циклов ВРТ с витрификацией эмбрионов не различалось в группах сравнения (таблица 9).

Таблица 9

Параметры раннего эмбриогенеза в группах сравнения

	Группа 1 (n=109)	Группа 2 (n=191)	P*
Число зигот**	6 (4-9)	6 (4-9)	0,9459
Уровень фертилизации**	100 (80-100)	100 (84-100)	0,3986
Уровень фертилизации $\geq 90\%$	66 (60,6%)	131 (68,6%)	0,1009
Уровень фертилизации <90%	43 (39,4%)	60 (31,4%)	
Число бластоцист	2 (1-3)	2 (1-4)	0,0410
Уровень бластуляции**	0,33 (0,20-0,50)	0,50 (0,25-0,64)	0,0004
Уровень бластуляции $\geq 30\%$	67 (61,5%)	136 (71,2%)	0,0556
Уровень бластуляции < 30%	42 (38,5%)	55 (28,8%)	
Число бластоцист отличного качества**	2 (1-3)	2 (1-4)	0,0459
Отсутствие дробления эмбрионов	16 (14,7%)	20 (10,5%)	0,1856
Криоконсервация бластоцист	68 (62,4%)	124 (64,9%)	0,3756

* χ^2 -тест для сравнения категориальных данных/тест Манна-Уитни для сравнения непрерывных данных

** медиана (интерквартильный размах)

Также был проведен корреляционный анализ между уровнем различных АХВ и основными эмбриологическими показателями.

Уровень *свинца* находился в отрицательной корреляционной связи с уровнем фертилизации ооцитов ($r = -0,1404$, $p < 0,05$). Уровень *кадмия* находился в отрицательной корреляционной связи с числом бластоцист ($r = -0,1168$, $p < 0,05$) и уровнем бластуляции ($r = -0,1421$, $p < 0,05$). Уровень *ртути*, *БФА* и *стирола* не был связан статистически с эмбриологическими показателями.

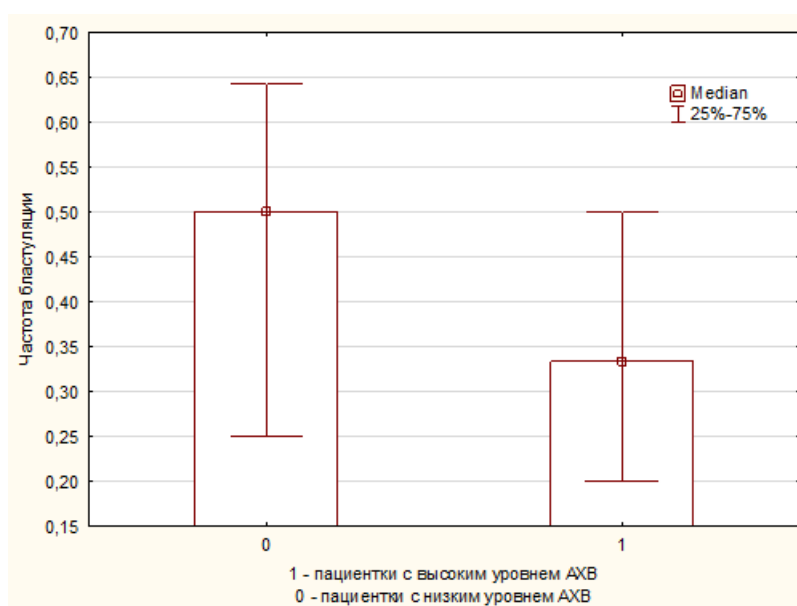


Рис. 6. Уровень бластуляции в группах сравнения

3.5. Клинические результаты циклов ВРТ в зависимости от уровня АХВ

При оценке клинических исходов циклов ВРТ отмечена тенденция к снижению частоты наступления клинической беременности и повышению частоты ранних репродуктивных потерь у женщин с высоким уровнем АХВ, хотя различия не достигли статистической значимости.

В группе 1 беременность наступила у 44 пациенток (40,4%), в группе 2 – у 92 пациенток (48,2%), $\Delta = 7,8\%$, $p = 0,1180$. Беременность закончилась самопроизвольным прерыванием в 1 триместре у 12 пациенток (27,3%) в

группе 1 и у 16 пациенток (17,4%) в группе 2, $\Delta=9,9\%$, $p=0,1355$. В результате частота родов была погранично значима выше в группе с низким уровнем АХВ: в группе 1 роды произошли у 33 пациенток (30,3%), в группе 2 роды произошли у 75 пациенток (39,3%), $\Delta=9,0\%$, $p=0,0750$ (таблица 10). При оценке перинатальных осложнений не было выявлено различий между группами.

Таблица 10

Клинические результаты циклов ВРТ в группах сравнения

	Группа 1, n=109	Группа 2, n=191	Δ	ОР (95% ДИ)	P, χ^2
Частота наступления беременности	44 (40,4%)	92 (48,2%)	7,8%	1,37 (0,83; 2,28)	0,1180
Частота выкидыша	12/44 (27,3%)	16/92 (17,4%)	9,9%	1,57 (0,81; 3,02)	0,1355
Частота родов	33 (30,3%)	75 (39,3%)	9,0%	1,49 (0,88; 2,55)	0,0750
Σ частота родов	48 (44,0%)	95 (49,7%)	5,7%	1,26 (0,76; 2,08)	0,2031

Также проанализировали кумулятивную частоту родов. В результате переносов размороженного эмбриона роды произошли у 15 пациенток в группе 1 и у 20 пациенток в группе 2. Кумулятивная частота родов составила 44,0% (48/109) в группе 1 и 49,7% (95/191) в группе 2, статистических различий не выявлено.

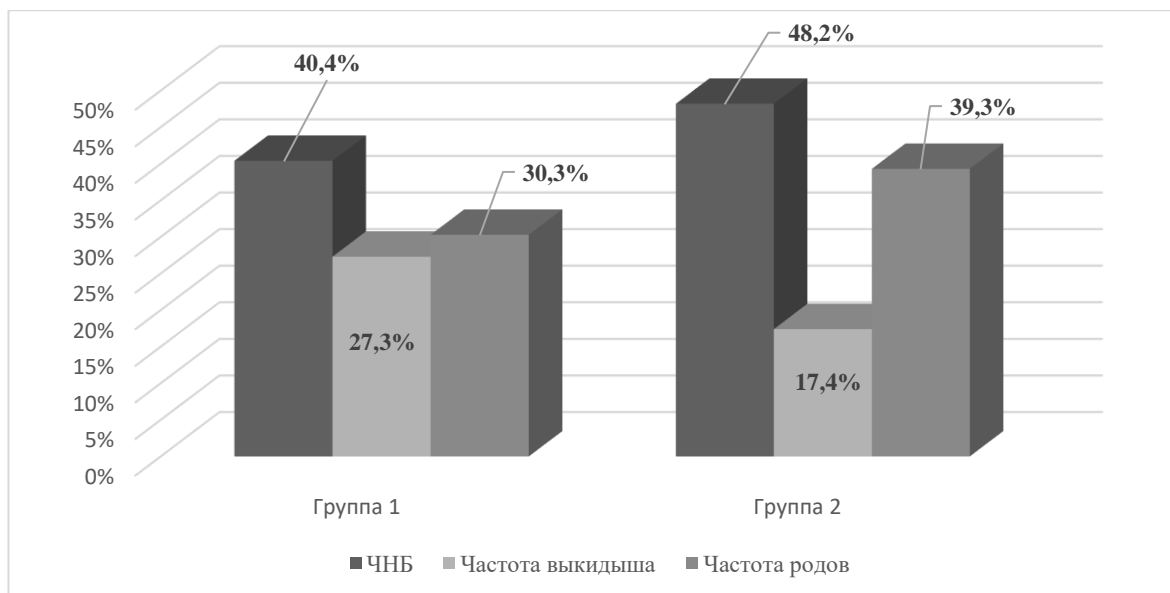


Рис. 7. Клинические результаты циклов ВРТ в группах сравнения

В результате данного этапа исследования получены данные о негативном влиянии антропогенных химических веществ на эмбриологический этап и клинические результаты циклов ВРТ. Повышенный уровень свинца ассоциирован со снижением уровня фертилизации ооцитов ($r = -0,1404, p < 0,05$), а повышенный уровень кадмия – с числом бластоцист ($r = -0,1168, p < 0,05$) и уровнем бластуляции ($r = -0,1421, p < 0,05$).

В группе пациенток с высоким уровнем АХВ наблюдали снижение числа бластоцист и уровня бластуляции. Риск низкой бластуляции (менее 30%) был в 1,34 раз выше по сравнению с подгруппой пациенток с низким уровнем АХВ.

При оценке результатов циклов ВРТ отмечена тенденция к снижению частоты наступления беременности (в группе с низким уровнем АХВ ЧНБ выше в 1,4 раза) и повышению частоты выкидыша (в 1,67 раза) у пациенток с высоким уровнем АХВ, в результате чего частота родов была в 1,5 раза выше у пациенток с низким уровнем АХВ.

3.6. Определение бисфенола А в фолликулярной жидкости пациенток

Порог определения БФА в фолликулярной жидкости был аналогичен порогу определения в крови и составил 0,1 мг. В результате проведенного исследования БФА был обнаружен в 16,8% (49/292) образцах фолликулярной жидкости. Не было обнаружено статистической связи между уровнем БФА в крови и ФЖ у одних и тех же пациенток ($r = -0,0517$, $p = 0,3792$).

Затем провели анализ параметров оогенеза и раннего эмбриогенеза в зависимости от наличия/отсутствия БФА, а также уровня данного вещества. Не было выявлено статистически значимой связи между уровнем бисфенола А в фолликулярной жидкости и количеством ооцитов ($p = 0,3233$), количеством зрелых ооцитов ($p = 0,2206$), числом бластоцист ($p = 0,5036$), уровнем бластуляции ($p = 0,6671$). При разделении пациенток на группы в зависимости от наличия или отсутствия определяемого (т.е. 0,1 нг/мл и выше) уровня бисфенола А в фолликулярной жидкости, не было выявлено статистически значимых различий в эмбриологических параметрах (число ооцитов, доля зрелых ооцитов, число бластоцист, уровень бластуляции) (таблица 11).

Таблица 11

Эмбриологический этап циклов ВРТ в зависимости от содержания БФА в ФЖ

БФА	Определяется в ФЖ (n=49)		Не определяется в ФЖ (n=243)	P*
	ФЖ>кровь (n=25)	Кровь>ФЖ (n=24)		
Число фолликулов	9 (6-13)	9 (7-14)	10 (6-14)	0,7744
Число ОКК	7 (5-12)	8 (5,5-14)	9 (5-12)	0,5833
Число ооцитов МП	5 (4-10)	7 (4-10)	6 (4-10)	0,6394
Число ооцитов МП/число ОКК	0,80 (0,67-0,87)	0,85 (0,67-1,00)	0,86 (0,70-1,00)	0,5212
Число бластоцист	1 (1-5)	2,5 (1,5-4,5)	3 (1-4)	0,5254
Число бластоцист отличного качества	1 (0,5-5,0)	2,5 (1-4,5)	2 (1-4)	0,5152

Данные представлены как медиана (интерквартильный размах), * тест Краскела-Уаллиса

Затем был проведен подробный анализ подгруппы пациенток, у которых уровень бисфенола А в фолликулярной жидкости был выше порога определения (т.е. $\geq 0,1$ нг/мл). Обнаружено, что среди 49 пациенток, у которых определялся БФА в фолликулярной жидкости, у 25 пациенток уровень бисфенола А был выше в фолликулярной жидкости, а у других 24 пациенток – в крови. При сравнении данных подгрупп наблюдалась тенденция к снижению количества и качества эмбрионов, если уровень БФА в фолликулярной жидкости превышал аналогичный уровень в крови, однако данные различия не были статистически значимы.

3.7. Определение уровня антропогенных химических веществ у мужчин

Для решения задачи 3 проведено исследование уровня АХВ в крови 154 мужчин-партнеров пациенток, включенных в исследование. Медиана возраста мужчин составила 33 года (30-36 лет). Наличие тяжелых форм патозооспермии (абсолютная тератозооспермия, абсолютная астенозооспермия, любые формы азооспермии) были критерием невключения в исследование, вследствие чего все пациенты имели нормальные или близкими к нормальным показателям спермограммы.

Медиана концентрации сперматозоидов составили 57,0 млн/мл (31-86 млн/мл). Медиана подвижности сперматозоидов (прогрессивно-подвижные, PR) составила 51% (40-64%). Медиана морфологически нормальных сперматозоидов составила 2% (1-3%).

Стирол определялся в 100% образцах крови мужчин, бисфенол А был обнаружен в 91,6% (141/154) образцах крови. Данные по распределению данных веществ представлены в таблице 12.

Распределение уровня бисфенола А и стирола в крови мужчин

	Медиана	Интерквартильный размах	Минимум-максимум
БФА, нг/мл	0,59	0,23-2,14	0-53,16
Стирол, нг/мл	9,90	6,20-15,40	2,00-31,00

Отмечена положительная корреляционная связь между уровнем стирола в организме пациенток и их супругов ($r= 0,6924$, $p<0,0001$), а также положительная корреляционная связь между уровнем БФА в организме пациенток и их супругов ($r= 0,5343$, $p<0,0001$). Полученные данные также свидетельствуют о том, что экспозиция АХВ определяется особенностями образа жизни пациентов.

Следует отметить, что уровень органических соединений у мужчин был выше, по сравнению с аналогичными показателями у женщин. Уровень БФА у женщин составил 0,52 нг/мл, уровень стирола у женщин – 8,85 нг/мл.

При этом не отмечено корреляционной связи между уровнями стирола и бисфенола А у одних и тех же мужчин, а также между уровнями данных веществ, возрастом пациентов и основными параметрами спермограммы (концентрация, подвижность, морфология сперматозоидов (таблица 13)).

Корреляционный анализ между возрастом мужчины, уровнем АХВ и показателями спермограммы

	Бисфенол А	Стирол	Возраст	Концентрация сперматозоидов	Подвижность сперматозоидов	Морфология сперматозоидов
Бисфенол А	1	-0,089	-0,049	-0,009	-0,102	-0,571
		p=0,2712	p=0,5462	p=0,9121	p=0,2075	p=0,4821
Стирол	-0,089	1	-0,051	0,014	0,043	0,084
	p=0,2712		p=0,5236	p=0,8627	p=0,5946	p=0,2951
Возраст мужчин	-0,491	-0,051	1	-0,052	-0,072	-0,085
	p=0,5462	p=0,5236		p=0,5202	p=0,3741	p=0,2912
Концентрация сперматозоидов	-0,009	0,014	-0,052	1	0,311	0,284
	p=0,9121	p=0,8627	p=0,5202		p<0,0001	p<0,0001
Подвижность сперматозоидов	-0,102	0,043	-0,072	0,311	1	0,068
	p=0,2075	p=0,5946	p=0,3741	p<0,0001		p=0,4022
Морфология сперматозоидов	-0,571	0,084	-0,085	0,284	0,068	1
	p=0,4821	p=0,2951	p=0,2912	p<0,0001	p=0,4022	

Данные представлены как коэффициент корреляции (R, критерий Спирмена)

Также были проанализированы основные параметры сперматогенеза и раннего эмбриогенеза в различных квартильных группах стирола и БФА. При сравнении различных квартильных групп БФА не было найдено различий при сравнении подвижности, морфологии сперматозоидов, уровня фертилизации ооцитов и уровня бластуляции. Наблюдалась тенденция к снижению концентрации сперматозоидов с увеличением квартиля БФА (69 млн/мл в группе Q1 по сравнению с 51 млн/мл в группе Q4), хотя данные различия не были статистически значимы (таблица 14).

Параметры сперматогенеза и раннего эмбриогенеза в квартильных группах бисфенола А у мужчин

	Всего (n=154)	Q1 (n=41)	Q2 (n=36)	Q3 (n=39)	Q4 (n=38)	p*
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	57,0 (31,0-86,0)	69,0 (33,0-95,0)	63,5 (43,5-114,5)	69,0 (33,0-92,0)	51,0 (24,0-100,0)	0,8082
Подвижность сперматозоидов, PR	51,0 (40,0-64,0)	62,0 (45,0-69,0)	57,0 (46,5-66,0)	55,0 (36,0-69,0)	55,5 (40,0-72,0)	0,6153
Морфологически нормальные сперматозоиды, %	2 (1-3)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-3)	2 (1-3)	0,9364
Уровень фертилизации	100 (83-100)	100 (100-100)	100 (95-100)	100 (80-100)	100 (83-100)	0,3381
Уровень бластуляции	0,40 (0,22-0,60)	0,44 (0,20-0,60)	0,33 (0,16-0,50)	0,40 (0,16-0,66)	0,47 (0,33-0,64)	0,4798

* тест Крускала-Уаллиса; данные представлены как медиана (интерквартильный размах)

При сравнении аналогичных параметров в квартильных группах стирола статистических различий не получено (таблица 15).

Также были проанализированы результаты циклов ВРТ в различных квартильных группах стирола и бисфенола А у мужчин. Частота наступления беременности не различалась в группах Q1-Q4 БФА, однако наблюдали тенденцию к повышению частоты ранних репродуктивных потерь при повышении уровня БФА в крови мужчин. Частота самопроизвольного прерывания беременности составила 23,5% в группе Q4 по сравнению с 5,6% в группе Q1 и 20,8% в общей группе пациентов (таблица 16).

Таблица 15

Параметры сперматогенеза и раннего эмбриогенеза в различных квартильных группах стирола у мужчин

	Всего (n=154)	Q1 (n=39)	Q2 (n=39)	Q3 (n=39)	Q4 (n=37)	p*
Концентрация сперматозоидов, млн/мл	57,0 (31,0-86,0)	62 (27-111)	53 (26-111)	74 (36-104)	68 (33-86)	0,6286

Подвижность сперматозоидов, PR	51,0 (40,0-64,0)	54 (43-63)	60 (50-70)	61 (41-69)	56 (40-72)	0,5569
Морфологически нормальные сперматозоиды, %	2 (1-3)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-3)	2 (1-3)	0,2145
Уровень фертилизации	100 (83-100)	100 (80-100)	100 (80-100)	100 (90-100)	100 (87-100)	0,6778
Уровень бластуляции	0,40 (0,22-0,60)	0,43 (0,28-0,67)	0,33 (0,20-0,58)	0,33 (0,12-0,50)	0,50 (0,25-0,67)	0,2324

* тест Крускала-Уалиса; данные представлены как медиана (интерквартильный размах)

Таблица 16

Результаты циклов ВРТ в зависимости от уровня БФА в крови мужчин

БФА	Всего (n=154)	Q1♂ (n=41)	Q2♂ (n=36)	Q3♂ (n=39)	Q4♂ (n=38)	P, χ^2
ЧНБ	67 (47,5%)	13 (46,4%)	21 (58,3%)	16 (41,0%)	17 (44,7%)	0,4792
Частота выкидыша	15 (20,8%)	1 (5,6%)	6 (28,6%)	4 (25,0%)	4 (23,5%)	0,3144
Частота родов	52 (36,9%)	12 (42,9%)	15 (41,7%)	12 (30,8%)	13 (34,2%)	0,6765
Σ частота родов	68 (48,2%)	16 (57,1%)	17 (47,2%)	18 (46,2%)	17 (44,7%)	0,7634

Путем ROC-анализа был определен пороговый уровень бисфенола А у мужчин, при котором повышалась вероятность прерывания беременности в 1-м триместре. Пороговый уровень составил 0,4 нг/мл. **ОШ самопроизвольного прерывания беременности** при уровне бисфенола А у мужчин 0,4 нг/мл и выше составило **4,06 (95% ДИ 0,77; 40,13)**.

При оценке исходов циклов ВРТ в зависимости от уровня стирола у мужчин отмечено негативное влияние уровня стирола на эффективность ВРТ (таблица 17). Частота наступления клинической беременности составила 24,3% в группе Q4 по сравнению с 53,8% в группах Q1, Q2 и Q3 ($p=0,0020$). ОШ наступления беременности в группе Q4 по сравнению с другими подгруппами составило 0,28 (95% ДИ 0,11; 0,67). Частота выкидыша не

различалась в группах сравнения. ОШ родов в группе Q4 по сравнению с другими подгруппами составило 0,38 (95% ДИ 0,14; 0,96).

Таблица 17

Результаты циклов ВРТ в зависимости от уровня стирола у мужчин

Стирол	Всего (n=154)	Q1♂ (n=39)	Q2♂ (n=39)	Q3♂ (n=39)	Q4♂ (n=37)	P, χ^2
ЧНБ	67 (47,5%)	21 (53,8%)	21 (53,8%)	21 (53,8%)	9 (24,3%)	0,0020
Частота выкидыша	15 (20,8%)	8 (38,1%)	2 (9,5%)	4 (19,0%)	1 (11,1%)	0,1130
Частота родов	52 (36,9%)	13 (33,3%)	19 (48,7%)	17 (43,6%)	8 (21,6%)	0,0725
Σ частота родов	68 (48,2%)	18 (46,2%)	24 (61,5%)	20 (51,3%)	12 (32,4%)	0,0832

Таким образом, наблюдалась значимая положительная корреляционная связь между уровнями стирола и бисфенола А у пациенток и их супругов. Отмечена тенденция к снижению концентрации сперматозоидов при увеличении уровня БФА у мужчин: медиана концентрации сперматозоидов в подгруппе Q4 была в 1,4 раза ниже, по сравнению с подгруппой Q1. Повышение уровня БФА у мужчин ассоциировано с повышением выкидыша: частота самопроизвольного прерывания беременности составила 23,5% в группе Q4 по сравнению с 5,6% в группе Q1 и по сравнению с 20,8% в общей группе пациентов.

Уровень стирола в крови мужчин не был связан с показателями спермограммы (подвижностью, концентрацией и морфологией сперматозоидов). Повышенный уровень стирола в крови мужчин ассоциирован с низкой эффективностью ВРТ. При наличии высокого уровня стирола (Q4) по сравнению с низким уровнем стирола (Q1-Q3) частота наступления беременности снижается в 3,6 раз; частота родов – в 2,6 раз.

3.8. Полиморфизм генов системы детоксикации

Для решения задач 4 и 5 были оценены генетические особенности системы детоксикации пациенток, включенных в исследование.

Было изучено распределение аллелей и генотипов следующих полиморфных локусов ферментов: глутатион-S-трансферазы T1 (*GSTT1*, делеция гена), глутатион-S-трансферазы M1 (*GSM1*, делеция гена), глутатион-S-трансферазы P1 (*GSTP1*, rs1695, rs1138272), супероксид дисмутаза (*SOD*, rs4880) цитохрома P450 (*CYP1A1*, rs4646903, rs1048943), глутатион пероксидазы 1 (*GPX1*, rs1050450), эпоксид гидролазы 1 (*EPH1*, rs1051740), N-ацетил трансферазы 2 (*NAT2*, rs 1801280, rs 179993, rs 179930), сульфотрансферазы 1A1 (*SULT1A1*, rs9282861).

3.8.1 Полиморфизм генов детоксикации и тяжелые металлы

Вначале была изучена связь между клинико-anamnestическими характеристиками пациенток, полиморфизмом генов системы детоксикации и содержанием **тяжелых металлов** в организме пациенток (таблица 18). В данной таблице представлены только гены, по которым получены статистически значимые различия, полный вариант расположен в приложении, часть 2.

При анализе клинико-anamnestических данных отмечено повышение уровня ртути у пациенток позднего репродуктивного возраста: у пациенток в возрасте до 30 лет медиана уровня ртути составила 0,64 мкг/л, у пациенток в возрасте от 30 до 35 лет – 0,83 мкг/л, у пациенток старше 35 лет – 0,95 мкг/л ($p=0,0219$). Уровень кадмия был выше у пациенток с избыточной массой тела (медиана 0,43 мкг/л) по сравнению с пациентками с нормальным ИМТ (медиана 0,30 мкг/л), $p=0,0190$.

При анализе генотипа пациенток были выявлены следующие различия: уровень ртути был погранично значимо выше при наличии делеции гена *GSTT1*: 0,89 мкг/л против 0,78 мкг/л, $p=0,0602$. Уровень свинца и ртути в крови

пациенток был значимо ниже у пациенток с отсутствием аллеля Т гена *CYP1A1*rs4646903 (ртуть 0,34 мкг/л против 0,82 мкг/л, $p=0,0515$; свинец 6,31 мкг/л против 9,96 мкг/л, $p=0,0032$). Уровень свинца был ниже пациенток с наличием аллеля G гена *GSTP1*rs1695 (ртуть 0,70 мкг/л против 0,90 мкг/л, $p=0,1205$; свинец 9,51 мкг/л против 10,16 мкг/л, $p=0,0684$). Уровень ртути был выше у пациенток с отсутствием аллеля А гена *SULT1A1* rs9282861. Уровень кадмия не был связан с генетическими особенностями системы детоксикации.

Таблица 18

Концентрация Hg, Pb и Cd в крови пациенток в зависимости от клинико-лабораторных данных и полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков

Факторы	Hg		Pb		Cd	
	медиана	p-уровень*	медиана	p-уровень*	медиана	p-уровень*
Возраст (лет)						
<30	0,64	0,0219	9,72	0,9815	0,30	0,6102
30-<35	0,83		9,75		0,31	
≥35	0,95		9,94		0,34	
ИМТ (кг/м ²)						
<25	0,81	0,4419	9,96	0,6034	0,30	0,0149
≥25	0,70		9,50		0,43	
АМГ, нг/мл						
≥1,2	0,79	0,6983	9,72	0,2057	0,31	0,5981
<1,2	0,83		10,09		0,34	
<i>GSTT1</i>						
наличие гена	0,78	0,0602	9,74	0,3455	0,31	0,6009
делеция гена	0,89		10,17		0,33	
<i>GSTP1</i> rs1695						
AA	0,90	0,0205	10,16	0,1807	0,32	0,4035
AG	0,66		9,37		0,29	
GG	0,98		9,75		0,30	
G+	0,70	0,1205	9,51	0,0684	0,29	0,1877
G-	0,90		10,16		0,32	
A+	0,78	0,0916	9,92	0,7695	0,31	0,4896
A-	0,98		9,75		0,30	
<i>CYP1A1</i> rs4646903						
TT	0,78	0,1434	9,79	0,0129	0,31	0,5053
CT	0,88		10,39		0,30	
CC	0,34		6,31		0,27	
T+	0,82	0,0515	9,96	0,0032	0,32	0,2658
T-	0,34		6,31		0,27	
C+	0,83	0,8926	10,09	0,6218	0,30	0,9193
C-	0,78		9,79		0,31	
<i>SULT1A1</i> rs9282861						
AA	0,81	0,1695	10,74	0,5407	0,30	0,9894
AG	0,71		9,72		0,32	
GG	0,88		9,74		0,30	

A+	0,72	0,0688	9,93	0,9381	0,31	0,9629
A-	0,88		9,74		0,30	
G+	0,79	0,9526	9,73	0,3006	0,31	0,9062
G-	0,81		10,74		0,30	

* Краскела-Уаллиса/Манна-Уитни

Данные по оценке сочетанного влияния тяжелых металлов и полиморфизма генов системы детоксикации на исходы циклов ВРТ представлены в таблице 19. В качестве исходов оценивали следующие показатели: уровень фертилизации (<90% или $\geq 90\%$), уровень бластуляции (<30% или $\geq 30\%$), ЧНБ, частоту родов живым плодом. Для оценки влияния уровня Hg/Pb в крови на исходы программ ВРТ в зависимости от полиморфизмов генов системы биотрансформации ксенобиотиков был применен регрессионный анализ.

Для создания модели были отобраны показатели, выявленные при проведении однофакторного анализа.

Таблица 19

Регрессионный анализ сочетанного влияние содержания Hg/Pb и полиморфизмов генов системы биотрансформации ксенобиотиков на исходы программ ВРТ

Модель*	Фертилизация		Бластуляция		ЧНБ		Частота живорождения	
	β *	р-уровень	β *	р-уровень	β *	р-уровень	β *	р-уровень
Модель 1: связь с <i>GSTT1</i> rs1695								
концентрация Hg	-0,0810	0,5885	-0,1620	0,2975	0,1333	0,3501	0,0608	0,6820
сочетанный показатель <i>GSTT1</i>*Hg	0,0509	0,5532	0,0353	0,6921	0,0633	0,7377	0,0047	0,9806
Модель 2: связь с <i>GSTP1</i> rs1138272								
концентрация Pb	-5,4464	0,0068	1,0178	0,6291	0,5480	0,7768	1,7041	0,3963
сочетанный показатель <i>GSTP1</i>*Pb	-0,8061	0,3883	-0,2479	0,7986	0,7967	0,7258	2,2950	0,3310
Модель 3: связь с <i>CYP1A1</i> rs4646903								
концентрация Hg	-0,0810	0,5885	-0,1620	0,2975	0,1333	0,3501	0,0608	0,6820
сочетанный показатель <i>CYP1A1</i>*Hg	-0,0854	0,5693	-0,1667	0,2851	0,2653	0,3501	0,1169	0,6941
концентрация Pb	-5,4464	0,0068	1,0178	0,6291	0,5480	0,7768	1,7041	0,3963

сочетанный показатель <i>CYP1A1*Pb</i>	-5,4049	0,0075	0,9945	0,6381	1,2075	0,7551	3,4823	0,3869
Модель 4: связь с <i>SULT1A1</i> rs9282861								
концентрация Hg	-0,0810	0,5885	-0,1620	0,2975	0,1333	0,3501	0,0608	0,6820
сочетанный показатель <i>SULT1A1*Hg</i>	0,2933	0,5885	1,5371	0,2160	0,6412	0,4238	0,1211	0,7280

*- коэффициент регрессии -F-критерий/линейная регрессия

При проведении регрессионного анализа выявлено, что сочетанный показатель *CYP1A1*Pb* в крови значимо влиял на фертилизацию ооцитов.

*Таким образом, отмечена связь между генетическим полиморфизмом системы детоксикации и содержанием тяжелых металлов в организме пациенток. Выявлены аллельные варианты (отсутствие делеции гена *GSTT1*, наличие аллеля G гена *GSTP1rs1695* и аллеля A *SULT1A1* rs9282861, отсутствие аллеля T гена *CYP1A1rs4646903*), которые имеют протективное значение и предотвращают накопление тяжелых металлов в крови. Выявлено сочетанное влияние *CYP1A1*Pb* на фертилизацию ооцитов.*

3.8.2. Полиморфизм генов детоксикации и органические соединения

На следующем этапе проведен анализ связи основных клинико-анамнестических характеристик, генетических особенностей системы детоксикации и содержания **органических веществ** в организме пациенток. Учитывали следующие показатели: медиану уровня стирола в организме, медиану уровня БФА в организме, а также же процент пациенток с детектируемой концентрацией БФА в фолликулярной жидкости.

При анализе клинико-анамнестических данных отмечено, что у пациенток с более высоким ИМТ (≥ 25 кг/м²) чаще определялся БФА в фолликулярной жидкости (31,6% против 14,6%, $p=0,0122$), а медиана БФА в крови была ниже (0,38 нг/мл против 0,53 нг/мл, $p=0,0411$). Других

закономерностей при оценке клинико-anamнестических факторов не выявлено.

При анализе ассоциации между уровнем БФА и полиморфизмом генов детоксикации отмечено, что у пациенток с отсутствием аллеля А гена *SULT1A1* значимо чаще определяли бисфенола А в фолликулярной жидкости (22,6% против 13,5%, $p=0,0341$). Также была обнаружена погранично значимая связь между уровнем бисфенола А в крови и наличием аллеля G гена *GSTP1(rs1695)*, аллеля С в гене *GSTP1(rs1138272)*, частотой определения БФА в фолликулярной жидкости и наличием аллеля С гена *SOD2*.

Уровень стирола в крови пациенток был значимо выше при наличии делеции гена *GSM*, при наличии аллеля С гена *GSTP1(rs1138272)*, при наличии аллеля С гена *NAT2rs1801280*, при наличии аллеля G гена *NAT2rs179930*. Также отмечено погранично значимое повышение уровня стирола при отсутствии аллеля А гена *NAT2rs17993* и отсутствии аллеля С гена *SOD*. Подробные данные представлены в таблице 20 (полный вариант таблицы представлен в приложении, часть 2).

Таблица 20

Концентрация бисфенола А и стирола в крови пациенток в зависимости от клинико-лабораторных данных и полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков

Факторы	БФА в крови		БФА определяется в ФЖ, n(%)		Стирол в крови	
	медиана	p-уровень*	медиана	p-уровень**	медиана	p-уровень*
Возраст (лет)						
<30	0,52	0,8810	12/91 (13,2%)	0,2151	9,10	0,2875
30-<35	0,52		29/139 (20,9%)		9,40	
≥35	0,52		8/61 (13,1%)		8,15	
ИМТ (кг/м ²)						
<25	0,53	0,0411	37/253 (14,6%)	0,0122	8,80	0,7091
≥25	0,38		12/38 (31,6%)		9,50	
АМГ, нг/мл						
≥1,2	0,52	0,5336	43/250 (17,2%)	0,4420	8,25	0,5918

<1,2	0,55		6/41 (14,6%)		8,90	
<i>GSM</i>		0,5131		0,2112		0,0017
наличие гена	0,52		30/160 (18,8%)		8,00	
делеция гена	0,52		19/131 (14,5%)		10,10	
<i>GSTP1</i> rs1695		0,1940		0,7761		0,9929
AA	0,54		23/139 (16,5%)		8,60	
AG	0,51		22/121 (18,2%)		9,30	
GG	0,46		4/31 (12,9%)		8,90	
G+	0,51	0,0769	26/152 (17,1%)	0,5121	9,20	0,9421
G-	0,54		23/139 (16,5%)		8,60	
A+	0,52	0,3020	45/260 (17,3%)	0,3733	8,80	0,9112
A-	0,46		4/31 (12,9%)		8,90	
<i>GSTP1</i> rs1138272						
CC	0,52	0,2110	37/239 (15,5%)	0,4076	8,80	0,0791
CT	0,51		11/47 (23,4%)		9,50	
TT	0,18		1/5 (20,0%)		5,20	
C+	0,52	0,0745	48/286 (16,8%)	0,6050	8,90	0,0252
C-	0,18		1/5 (20,0%)		5,20	
T+	0,48	0,4791	12/52 (23,1%)	0,1325	9,25	0,3928
T-	0,52		37/239 (15,5%)		8,80	
<i>SOD</i> rs4880						
CC	0,52	0,9339	12/56 (21,4%)	0,2502	8,75	0,1768
CT	0,52		29/162 (17,9%)		8,50	
TT	0,53		8/73 (11,0%)		10,75	
C+	0,52	0,9355	41/218 (18,8%)	0,0821	8,60	0,0636
C-	0,53		8/73 (11,0%)		10,75	
T+	0,52	0,8050	37/235 (15,7%)	0,2035	8,90	0,7204
T-	0,52		12/56 (21,4%)		8,75	
<i>CYP1A1</i> rs1799814						
AC	0,52	0,4865	0/15 (0%)	0,0582	10,75	0,1934
CC	0,52		49/276 (17,8%)		8,80	
<i>NAT2</i> rs1801280						
TT	0,49	0,4571	18/91 (19,8%)	0,3050	7,10	0,0217
CT	0,52		18/136 (13,2%)		9,30	

CC	0,53		13/64 (20,3%)		10,90	
T+	0,52	0,7267	36/227 (15,9%)	0,2535	8,55	0,1799
T-	0,53		13/64 (20,3%)		10,90	
C+	0,52	0,3210	31/200 (15,5%)	0,4001	9,70	0,0061
C-	0,49		18/91 (19,8%)		7,10	
<i>NAT2 rs179930</i>						
AA	0,39	0,2981	2/20 (10,0%)	0,6949	6,20	0,0653
AG	0,51		21/119 (17,6%)		9,30	
GG	0,53		26/152 (17,1%)		8,90	
A+	0,51	0,3188	23/139 (16,5%)	0,5122	8,50	0,4623
A-	0,53		26/152 (17,1%)		8,90	
G+	0,52	0,1546	47/271 (17,3%)	0,3120	9,20	0,0196
G-	0,39		2/20 (10,0%)		6,20	
<i>NAT2 rs17993</i>						
AA	0,49	0,9650	0/1	0,9031	6,80	0,1734
AG	0,42		2/12 (16,7%)		7,15	
GG	0,52		47/278 (16,9%)		9,10	
A+	0,49	0,8152	2/13 (15,4%)	0,6212	7,10	0,0615
A-	0,52		47/278 (16,9%)		9,10	
G+	0,52	-	49/290 (16,9%)	0,8322	8,90	-
G-	0,49		0/1		6,80	
<i>SULT1A1 rs9282861</i>						
AA	0,45	0,7801	6/39 (15,4%)	0,1275	7,90	0,2592
AG	0,52		19/146 (13,0%)		9,70	
GG	0,53		24/106 (22,6%)		8,50	
A+	0,52	0,3354	25/185 (13,5%)	0,0341	9,20	0,1395
A-	0,53		24/106 (22,6%)		8,50	
G+	0,52	0,9117	43/152 (17,1%)	0,5034	8,90	0,7969
G-	0,45		6/39 (15,4%)		7,90	

* Краскела-Уаллиса/Манна-Уитни тест

** χ^2 -тест

Далее был проведен регрессионный анализ для проверки влияния каждой модели, выделенной в ходе проведения однофакторного анализа, на различные результаты циклов ВРТ – частоту фертилизации, бластуляции, наступления беременности, живорождения.

Погранично значимые различия получены при оценке сочетанного влияния аллеля А гена *CYP11A1*rs1799814 и наличия БФА в фолликулярной жидкости на уровень бластуляции, а также при оценке сочетанного влияния аллеля А гена *NAT2* rs179930 и содержания стирола на частоту живорождения (таблица 21).

Таблица 21

Регрессионный анализ сочетанного влияние содержания БФА, стирола и полиморфизма генов системы детоксикации на исходы программ ВРТ

Модель*	Фертилизация		Бластуляция		ЧНБ		Частота живорождения	
	β *	р-уровень	β *	р-уровень	β *	р-уровень	β *	р-уровень
Модель 1: связь с <i>SOD2</i> (rs4880)								
БПА в ФЖ (%)	0,0900	0,2263	-0,0083	0,9093	-0,0218	0,7800	-0,0616	0,4133
Сочетанный показатель SOD2*БПА в ФЖ	1,1598	0,3149	0,2276	0,7965	0,1008	0,9040	0,3394	0,7124
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель SOD2*стирол	0,9060	0,4052	0,8287	0,4376	0,2301	0,7945	0,3971	0,6726
Модель 2: связь с <i>GSTP1</i> (rs1695)								
Концентрация БПА	-0,0006	0,9166	0,0010	0,8547	0,0036	0,5752	-0,0012	0,8379
Сочетанный показатель GSTP1*БПА	0,6271	0,5348	0,1169	0,8896	0,1682	0,8452	0,0709	0,9314
Модель 3: связь с <i>GSTP1</i> (rs1138272)								
Концентрация БПА	-0,0006	0,9166	0,0010	0,8547	0,0036	0,5752	-0,0012	0,8379
Сочетанный показатель GSTP1*БПА	0,7487	0,4738	0,1316	0,8767	0,7831	0,4579	0,2964	0,7436
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель GSTP1*стирол	1,1398	0,3212	0,5433	0,5813	0,7650	0,4662	0,6158	0,5408
Модель 4: связь с <i>CYP11A1</i> (rs1799814)								
БПА в ФЖ (%)	0,0900	0,2263	0,0076	0,9145	-0,0218	0,7800	-0,0616	0,4133
Сочетанный показатель CYP11A1*БПА в ФЖ	0,8381	0,4335	2,6547	0,0720	0,0677	0,9345	0,3668	0,6932
Модель 5: связь с <i>SULT1A1</i> (rs9282861)								

БПА в ФЖ (%)	0,0900	0,2263	0,0076	0,9145	-0,0218	0,7800	-0,0616	0,4133
Сочетанный показатель SULT1A1*БПА в ФЖ	1,1422	0,3205	0,1624	0,8501	0,0572	0,9443	0,7336	0,4810
Модель 6: делеция GSM*стирол								
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель GSM*стирол	0,5157	0,5976	0,4177	0,6589	0,2046	0,8150	0,3977	0,6721
Модель 7: связь с NAT2 rs1801280								
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель NAT2*стирол	0,5113	0,6001	0,8144	0,4438	0,8959	0,4093	0,4429	0,6425
Модель 8: связь с NAT2 rs179930								
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель NAT2*стирол	0,6138	0,5419	1,0600	0,3474	0,2913	0,7474	0,3965	0,6730
Модель 8: связь с NAT2 rs179930								
Концентрация стирола	0,0036	0,3118	-0,0032	0,3608	0,0022	0,5599	0,0032	0,3731
Сочетанный показатель NAT2*стирол	1,768	0,1723	2,1575	0,1174	0,9685	0,3808	2,5429	0,0803

*- коэффициент регрессии -F-критерий/линейная регрессия

Таким образом, отмечена связь между полиморфизмом системы детоксикации и содержанием органических соединений в организме пациентов. Выявлены аллельные варианты, предрасполагающие к накоплению стирола в организме (делеция гена GSM, наличие аллеля G гена NAT2rs179930, наличие аллеля C гена NAT2rs1801280, наличие аллеля C гена GSTP1rs1138272 и отсутствие аллеля C гена SODrs4880. Частота наличия в фолликулярной жидкости детектируемого уровня БФА была выше при отсутствии аллеля A гена SULT1A1 rs9282861, а также погранично значимо выше при наличии аллеля C гена SODrs4880 и отсутствии аллеля C гена CYP1A1rs 1799814. Уровень БФА в крови был погранично значимо выше у пациенток, имеющих аллель C гена GSTP1 rs1138272, а также не имеющих аллеля G гена GSTP1rs1695.

При оценке сочетанного влияния содержания органических веществ в организме пациенток и аллельного состояния системы детоксикации отмечено влияние аллеля A гена CYP1A1rs1799814 и наличия БПА в фолликулярной жидкости на уровень бластуляции, а также влияния

аллеля А гена NAT2rs179930 и содержания стирола на частоту живорождения.

Глава 4. Дифференцированный подход к прегравидарной подготовке

4.1. Оценка репродуктивных исходов при модификации образа жизни и приеме антиоксидантов

На втором этапе исследования провели исследование влияния модификации образа жизни и приема препаратов с антиоксидантным действием на содержание АХВ в организме пациенток и исходы циклов ВРТ (задачи 6 и 7). Для данного этапа были отобраны 180 пациенток с бесплодием, которым перед проведением цикла ВРТ определяли уровень АХВ методом масс-спектрометрии. Для разделения пациенток на группы (высокий/низкий уровень АХВ) использована шкала баллов, разработанная на предыдущем этапе исследования.

Группу 1 составили 90 пациенток с высоким уровнем АХВ, группу 2 – пациентки с низким уровнем АХВ. Всем пациенткам рекомендовали модификацию образа жизни на основании данных, полученных на первом этапе исследования. Пациентки были рандомизированы на 4 группы в зависимости от исходного уровня АХВ и назначения антиоксидантной терапии:

Группа 1, высокий уровень АХВ (n=90):

Группа 1а, прием антиоксидантов + (n=45);

Группа 1б, прием антиоксидантов - (n=45);

Группа 2, низкий уровень АХВ (n=90):

Группа 2а, прием антиоксидантов + (n=45);

Группа 2б, прием антиоксидантов - (n=45).

Через 3 месяца всем пациенткам провели повторное анкетирование (для определения доли пациенток, выполняющих рекомендации), а также повторное определение уровня АХВ и оценка исходов ВРТ.

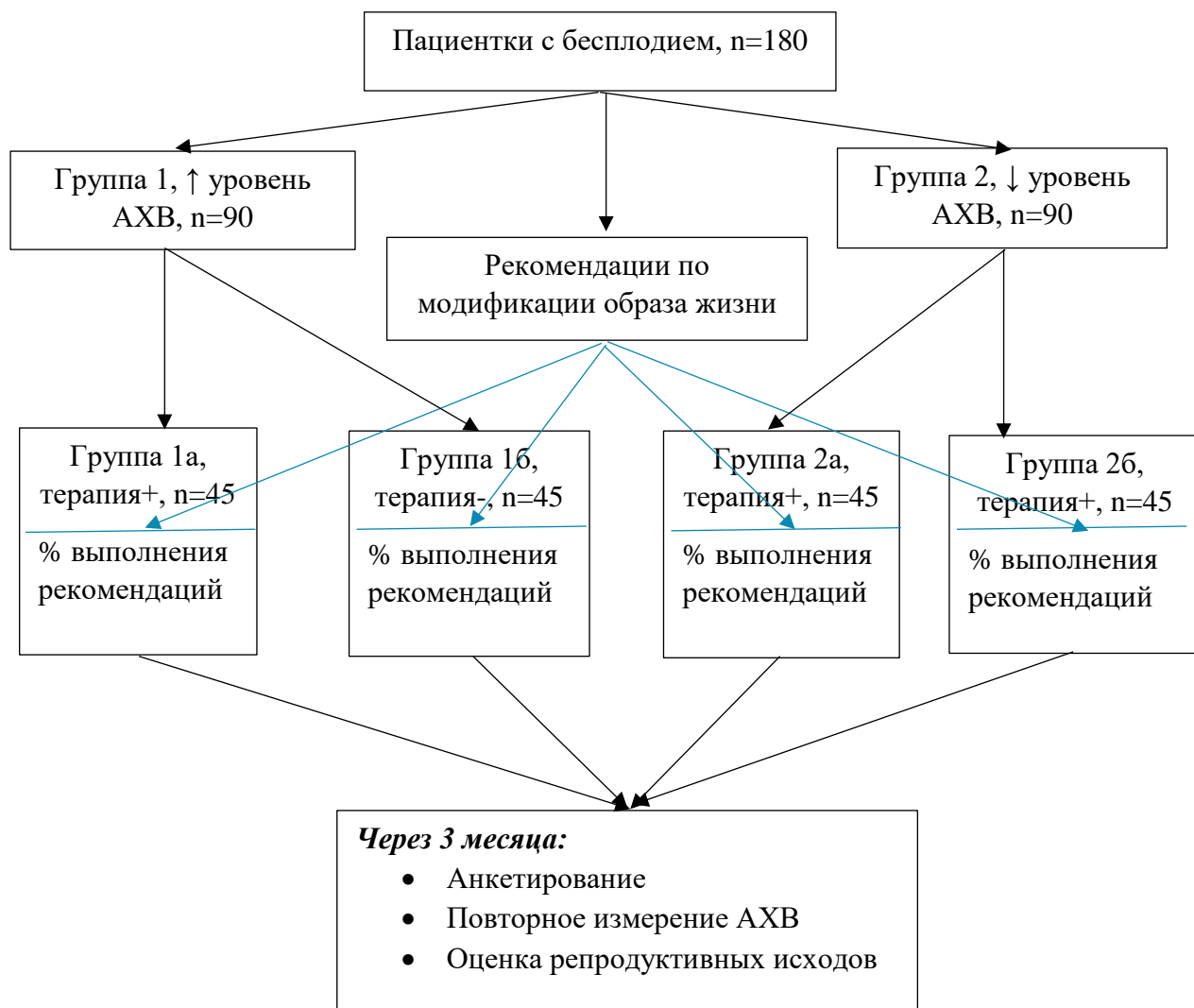


Рисунок 8. Профиль набора пациенток для решения задач 6 и 7

4.1.1. Антиоксидантная терапия: клиничко-анамнестические и лабораторные характеристики пациенток, включенных в исследование

С целью определения конфаундеров проанализировали клиничко-анамнестические характеристики пациенток.

Возраст пациенток не различался в группах сравнения: в группе 1а – 30 лет (28-33), в группе 1б – 32 года (29-35), в группе 2а – 31 год (28-33), в группе 2б – 32 года (28-34), $p=0,3896$.

При оценке **антропометрических показателей** (рост, масса тела, ИМТ) не найдено значимых различий между группами. ИМТ составил 21,5 (20,6-22,5) в группе 1а, 21,6 (20,4-23,8) в группе 1б, 21,2 (20,0-23,5) в группе 2а и 21,7 (19,7-22,9) в группе 2б ($p=0,8618$).

Далее проведен анализ **менструального цикла** в группах сравнения. Возраст менархе, длительность менструации и менструального цикла, а также возраст дебюта половой жизни не различались в 4-х группах.

При оценке **гинекологической заболеваемости** различий между пациентками в группах сравнения не выявлено.

Затем провели оценку **акушерского анамнеза**. Длительность бесплодия, а также доля пациенток с первичным и вторичным бесплодием также были сравнимы. Все включенные в исследование пациентки имели низкий паритет, общее число беременностей в анамнезе составило 40 в группе 1а, 42 в группе 1б, 34 в группе 2а, 36 в группе 2б. Среднее число беременностей, а также доли различных исходов беременностей в анамнезе не различались в группах сравнения.

При оценке анамнеза **соматических заболеваний** не было выявлено статистических значимых различий.

При анализе **гормонального профиля** пациенток также не было выявлено различий в группах сравнения. Медиана уровня АМГ не различались у пациенток в 4-х группах.

Также проанализировали особенности **протокола овариальной стимуляции**. Всем пациенткам проводили овариальную стимуляцию по протоколу с антагонистами ГнРГ. При оценке медиан длительности стимуляции яичников, суммарной дозы гонадотропинов, а также частоты использования различных препаратов гонадотропинов, статистически значимых различий не выявлено.

4.1.2. Влияние модификации образа жизни на репродуктивные исходы

Через 3 месяца всем пациенткам провели повторное анкетирование с целью определения доли пациенток, соблюдавших рекомендации по модификации образа жизни.

В группе 1а рекомендации по модификации образа жизни соблюдали 11 пациенток (24,4%), в группе 1б – 13 пациенток (28,8%), в группе 2а – 16 пациенток (35,6%), в группе 2б – 14 пациенток (31,1%).

Таблица 22

Частота наступления беременности в зависимости от модификации образа жизни

	Группа 1а, n=45		Группа 1б, n=45		Группа 2а, n=45		Группа 2б, n=45	
	Рекомендации +	Рекомендации -	Рекомендации +	Рекомендации -	Рекомендации +	Рекомендации -	Рекомендации +	Рекомендации -
Число пациенток	11	34	13	32	16	29	14	31
Беременность+	5/11	13/34	4/13	10/45	7/16	11/29	6/14	11/31
ЧНБ	45,5%	38,2%	30,8%	22,2%	43,8%	37,9%	42,9%	35,5%

Наблюдала тенденцию к повышению частоты наступления беременности в подгруппах пациенток, которые следовали рекомендациям по модификации образа жизни. Максимальные различия в ЧНБ ($\Delta=23,2\%$) наблюдали при сравнении подгруппы пациенток, которые изначально имели высокий уровень АХВ, принимали антиоксидантную терапию и изменили образ жизни, по сравнению с подгруппой пациенток, которые также имели высокий уровень АХВ, но не изменили образ жизни и не получали терапию. Ожидаемая частота наступления беременности в популяции в данных группах составила 26,8% и 19,6%, соответственно.

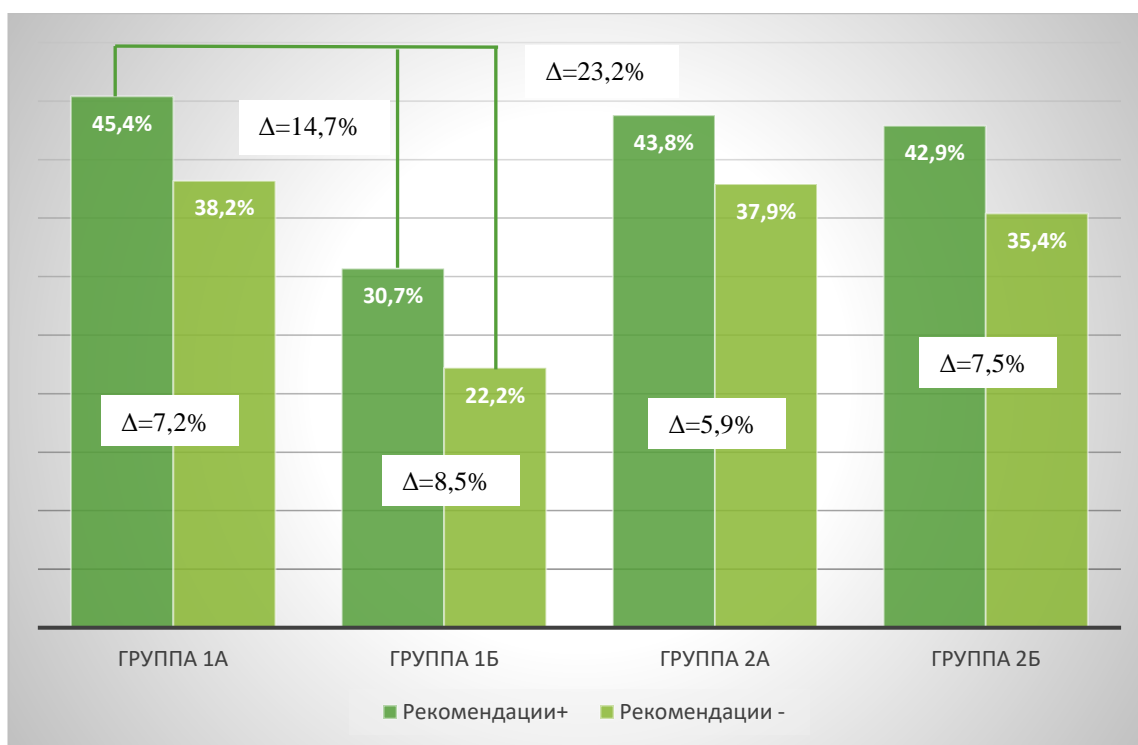


Рисунок 9. Частота наступления беременности в циклах ВРТ в зависимости от приема антиоксидантной терапии и модификации образа жизни

4.1.3. Динамика содержания АХВ в организме пациенток в зависимости от проведения антиоксидантной терапии

Всем пациенткам, включенным в данный этап исследования, проводили двукратное определение уровня АХВ в крови. Первое измерение проводили за 3 месяца до проведения цикла ВРТ. Второе измерение проводили в день трансвагинальной пункции яичников в цикле ВРТ. Проведена сравнительная оценка содержания АХВ при первом и повторном измерении.

Отмечено снижение уровня АХВ при измерении № 2 в группе пациенток с исходно высоким уровнем АХВ, получавших антиоксидантную терапию (группа 1а). В других трех подгруппах уровень АХВ в двух измерениях не имел статистических различий. Подробные данные представлены в таблице 23.

Содержание АХВ в организме пациенток до и после антиоксидантной
терапии

	Измерение №1	Измерение №2	P, тест Уилкоксона
Группа 1а (высокий уровень АХВ, терапия +)			
Свинец, мкг/л	15,23 (10,33-19,37)	18,41 (11,95-22,19)	<0,0001
Ртуть, мкг/л	1,66 (1,12-1,94)	1,03 (0,89-1,09)	<0,0001
Кадмий, мкг/л	0,50 (0,38-0,65)	0,35 (0,29-0,46)	<0,0001
БФА, нг/мл	0,56 (0,46-0,85)	0,50 (0,32-0,68)	0,0043
Стирол, нг/мл	8,30 (5,20-12,40)	6,20 (4,70-8,90)	0,0036
Группа 1б (высокий уровень АХВ, терапия -)			
Свинец, мкг/л	16,24 (11,93-23,18)	16,58 (11,43-23,57)	0,2386
Ртуть, мкг/л	1,53 (0,95-2,60)	1,58 (0,89-2,10)	0,1869
Кадмий, мкг/л	0,48 (0,32-0,70)	0,50 (0,35-0,75)	0,6600
БФА, нг/мл	0,78 (0,48-0,91)	0,80 (0,55-1,15)	0,1915
Стирол, нг/мл	9,70 (6,80-13,70)	10,35 (7,70-14,10)	0,2263
Группа 2а (низкий уровень АХВ, терапия +)			
Свинец, мкг/л	9,50 (7,43-12,98)	9,56 (8,20-10,52)	0,8522
Ртуть, мкг/л	0,58 (0,23-1,18)	0,53 (0,25-0,95)	0,8611
Кадмий, мкг/л	0,32 (0,22-0,39)	0,30 (0,21-0,45)	0,9684
БФА, нг/мл	0,28 (0,15-0,50)	0,30 (0,16-0,45)	0,5321
Стирол, нг/мл	10,70 (6,50-15,40)	9,70 (6,20-13,60)	0,5509
Группа 2б (низкий уровень АХВ, терапия -)			
Свинец, мкг/л	9,88 (8,27-12,85)	9,33 (7,29-13,49)	0,2263
Ртуть, мкг/л	0,39 (0,17-0,63)	0,38 (0,25-0,54)	0,1397

Кадмий, мкг/л	0,23 (0,19-0,30)	0,24 (0,19-0,29)	0,4269
БФА, нг/мл	0,39 (0,11-0,81)	0,32 (0,07-0,82)	0,1566
Стирол, нг/мл	10,65 (7,50-15,40)	11,50 (7,65-15,25)	0,8875

Данные представлены как медиана (интерквартильный размах)

4.1.4. Параметры оогенеза и раннего эмбриогенеза в зависимости от назначения антиоксидантной терапии

Далее была проведена оценка основных параметров оогенеза и раннего эмбриогенеза в группах сравнения. При сравнении параметров оогенеза в группах 1а и 1б (высокий уровень АХВ, терапия +/-) отмечена тенденция к повышению доли зрелых ооцитов в общей когорте у пациенток, получавших детоксикационную терапию (группа 1а), различия погранично значимы.

При сравнении эмбриологических параметров в группах 2а и 2б (низкий уровень АХВ, терапия +/-) не выявлено статистических значимых различий (таблица 24).

Таблица 24

Параметры эмбриологического этапа у пациенток в группах сравнения

	Группа 1а, n=45	Группа 1б, n=45	P, 1а/1б**	Группа 2а, n=45	Группа 2б, n=45	P, 2а/2б**
Число фолликулов*	10 (6-15)	11 (7-14)	0,6432	11 (8-13)	12 (8-14)	0,1150
Число ооцитов*	9 (5-14)	10 (6-12)	0,7224	9 (7-12)	9 (8-13)	0,1276
Число ооцитов МП*	8 (4-10)	7 (5-11)	0,7866	6 (5-10)	5 (3-8)	0,1445
Доля зрелых ооцитов*	0,83 (0,71-1,0)	0,76 (0,55-0,95)	0,0844	0,83 (0,71-1,0)	0,80 (0,67-0,93)	0,2722
Уровень фертилизации*	90,9 (77,5-100)	100 (80,9-100)	0,2645	100 (83,8-100)	100 (95-100)	0,4622
Число бластоцист*	2 (1-5)	3 (1-4)	0,9462	3 (1-4)	3 (1-4)	0,5792

Число бластоцист отличного качества*	2 (1-4)	2 (1-4)	0,8912	2 (1-4)	2 (1-4)	0,6120
Уровень бластуляции*	0,35 (0,25-0,50)	0,41 (0,18-0,63)	0,6765	0,50 (0,35-0,71)	0,50 (0,17-0,67)	0,2812

* Данные представлены как медиана (интерквартильный размах)

** Тест Манна-Уитни

4.1.5. Результаты циклов ВРТ в группах сравнения

Далее оценили эффективность циклов ВРТ в группах пациенток. В качестве результатов оценивали частоту наступления клинической беременности и частоту родов.

При оценке клинических исходов циклов ВРТ наблюдали повышение частоты наступления клинической беременности и живорождения в группе 1а (высокий уровень АХВ, терапия +). В подгруппе пациенток с низким уровнем АХВ прием антиоксидантной терапии не приводил к повышению эффективности ВРТ. Данные представлены в таблице 25.

Таблица 25

Результаты циклов ВРТ в группах сравнения

	Группа 1а, n=45	Группа 1б, n=45	ОШ 1а/1б (95% ДИ)	Группа 2а, n=45	Группа 2б, n=45	ОШ 2а/2б (95% ДИ)
ЧНБ	18 (40,0%)	13 (28,9%)	1,64 (0,63; 4,35)	18 (40,0%)	17 (37,8%)	1,10 (0,43; 2,79)
Частота родов	17 (37,7%)	11 (24,4%)	1,88 (0,69; 5,19)	16 (35,6%)	15 (33,3%)	1,10 (0,42; 2,89)

Было рассчитано число пациентов, лечению подвергаемых (ЧПЛП, англ. The Number Needed to Treat, NNT).

В подгруппе пациенток с высоким уровнем АХВ (группа 1), абсолютное снижение риска (АСР) было рассчитано по формуле $18/45 - 13/45 = 0,4 - 0,289 = 0,111$. ЧПЛП было рассчитано по формуле $1/0,111 = 9$.

В подгруппе пациенток с низким уровнем АХВ (группа 2), АСР было рассчитано по формуле $18/45-17/45=0,4-0,378=0,022$. ЧПЛП было рассчитано по формуле $1/0,022=45,4\sim 45$.

При проведении терапии мы не наблюдали неблагоприятных побочных реакций (диспептические явления, аллергические реакции и т.д.), в связи с чем невозможно было рассчитать число пациентов, подвергаемых вреду (The Number Needed to Harm, NNH).

Прием пероральных антиоксидантов в рамках прегравидарной подготовки (полиненасыщенные жирные кислоты и коэнзим Q10) способствует уменьшению концентрации антропогенных химических веществ в организме пациенток, и повышает эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий. Прием антиоксидантной терапии при наличии высокого уровня антропогенной химической нагрузки увеличивает частоту наступления беременности в 1,6 раза, а частоту родов – в 1,8 раз. Для достижения 1 дополнительного случая наступления беременности терапию должны получать 9 пациенток.

4.2.1. Ассоциация между уровнем витамина Д в крови пациенток, полиморфизмом гена рецептора витамина Д и содержанием АХВ в организме пациенток

Для решения задачи № 8 в исследование были включены 100 пациенток, всем пациенткам проводили исследование уровня витамина Д в крови методом масс-спектрометрии.

В исследование были включены 100 пациенток, из них 50% (n=50) имели достаточный уровень витамина Д (группа 3д), 36% (n=36) имели недостаточный уровень витамина Д (группа 2д), 14% (n=14) имели дефицит витамина Д (группа 1д).

Для уровня витамина Д в данной части исследования были использованы нормативы Российской ассоциации эндокринологов [241]:

- Дефицит витамина Д (<20 нг/мл);
- Недостаточность витамина Д (≥ 20 и <30 нг/мл);
- Адекватный уровень витамина Д (≥ 30 нг/мл).

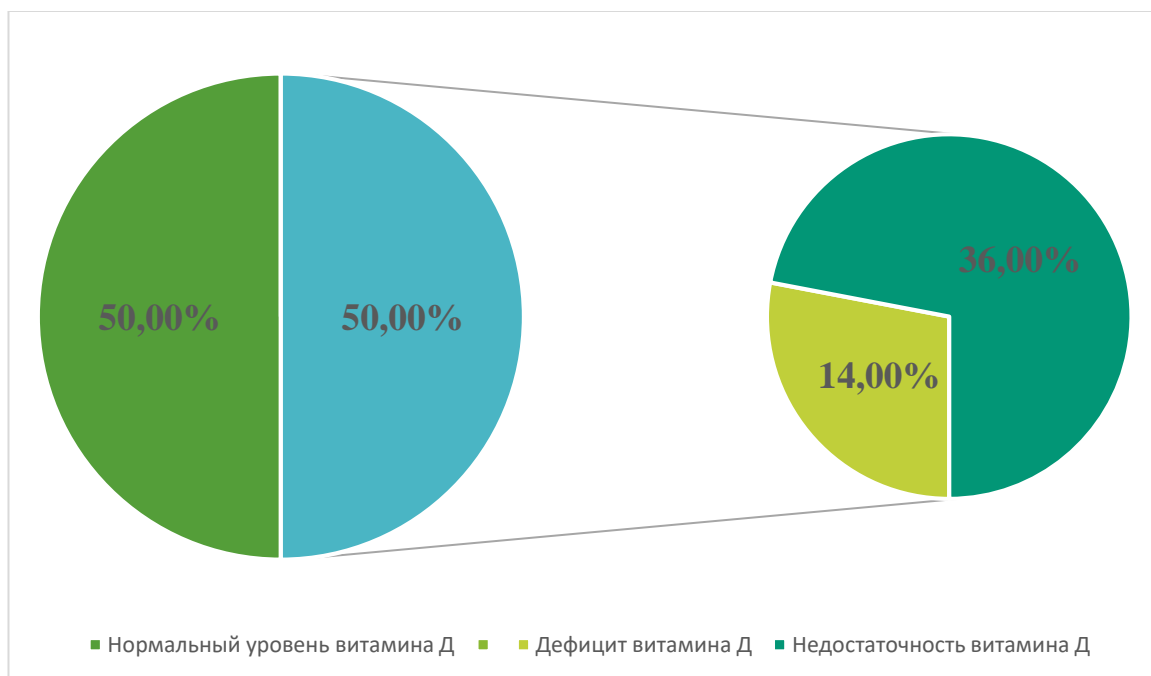


Рисунок 10. Уровень витамина Д у пациенток, включенных в исследование

Была изучена связь между основными клиническими характеристиками, генетическими особенностями рецептора к витамину Д и уровнем витамина Д у пациенток. Исследовали медианный уровень витамина Д и частоту дефицита витамина Д у пациенток.

Среди генетических особенностей рецептора к витамину Д изучали три различных полиморфизма гена *VDR* (FOKI-rs2228570, BsmI-rs1544410, TaqI-rs731236).

При оценке клинических характеристик пациенток отмечена более высокая распространенность дефицита витамина Д у пациенток с избыточной массой тела ($ИМТ \geq 25$ кг/м²): 33,3% против 11,4%, $p=0,0623$.

При оценке связи между уровнем витамина Д и генетическими особенностями его рецептора отмечена связь между содержанием витамина Д и наличием аллеля С в гене *VDR* (TaqI-rs731236), которая была погранично значимой. Пациентки с наличием аллеля С (n=58) вышеуказанного гена имели медианный уровень витамина Д 30,8 нг/мл, пациентки с отсутствием аллеля С (n=42) имели медианный уровень витамина Д 28,7 нг/мл (p=0,0971). Распространенность дефицита витамина Д была выше у пациенток с отсутствием аллеля С гена *VDR* (TaqI-rs731236): 21,4% против 8,6%, p= 0,0645, OR=2,49 (95% ДИ 0,90; 6,88); а также у пациенток с отсутствием аллеля А гена *VDR* (BsmI-rs1544410): 22,0% против 8,5%, p=0,0544, OR=2,81 (95% ДИ 1,01; 7,80).

Таблица 26

Концентрация витамина Д у пациенток в зависимости от клинико-анамнестических характеристик и полиморфизма рецептора к витамину Д

	Витамин Д, нг/мл		Дефицит витамина Д	
	Медиана	P*	n (%)	P**
Возраст, лет				
<30	28,9	0,8644	4/35 (11,4%)	0,7566
30-35	30,0		7/41 (17,1%)	
≥35	29,8		3/24 (12,5%)	
ИМТ, кг/м ²				
<25	30,1	0,1461	10/88 (11,4%)	0,0623
≥25	25,6		4/12 (33,3%)	
АМГ, нг/мл				
≥1,2 нг/мл	30,4	0,6958	11/85 (12,9%)	0,3515
<1,2 нг/мл	29,4		3/15 (20,0%)	
FOKI-rs2228570				
AA	28,8	0,5730	3/20 (15,0%)	0,8985
AG	31,3		7/46 (15,2%)	
GG	29,7		4/34 (11,8%)	
A+	30,1	0,5902	10/66 (15,2%)	0,4475
A-	29,7		4/34 (11,8%)	
G+	30,1	0,5180	11/80 (13,8%)	0,5645
G-	28,8		3/20 (15,0%)	

BsmI-rs1544410				
AA	30,9	0,2809	-	0,1223
AG	30,2		5/51 (9,8%)	
GG	28,9		9/41 (22,0%)	
A+	30,2	0,1318	5/59 (8,5%)	0,0545
A-	28,9		9/41 (22,0%)	
G+	29,7	0,3910	14/92 (15,2%)	0,2856
G-	30,9		-	
TaqI-rs731236				
CC	30,9	0,2258	-	0,1435
CT	30,8		5/50 (10,0%)	
TT	28,7		9/42 (21,4%)	
C+	30,8	0,0971	5/58 (8,6%)	0,0645
C-	28,7		9/42 (21,4%)	
T+	29,7	0,3910	14/92 (15,2%)	0,2856
T-	30,9		-	

* Краскела-Уаллиса/Манна-Уитни, ** χ^2 -тест

Содержание витамина Д в организме пациенток с бесплодием имеет связь с генетическими особенностями рецептора витамина Д. У пациенток с отсутствием аллеля С гена VDR (TaqI-rs731236) риск дефицита витамина Д (20 нг/мл и менее) увеличивается в 2,5 раз, с отсутствием аллеля А гена VDR (BsmI-rs1544410) – в 2,8 раз.

4.2.2. Ассоциация между уровнем АХВ и уровнем витамина Д

Для оценки связи между содержанием АХВ и уровнем витамина Д у пациенток вначале был проведен корреляционный анализ. Не было выявлено статистически значимой связи ($p < 0,05$), то есть уровень витамина Д в крови пациенток не имели корреляционной связи с уровнем АХВ (таблица 27).

Уровень витамина Д у пациенток с различным уровнем АХВ в организме также не имел статистических различий. В подгруппе пациенток с высоким уровнем АХВ средний уровень витамина Д составил 31,5 нг/мл, в группе с низким уровнем АХВ – 30,5 нг/мл ($p = 0,6490$, t-тест).

На следующем этапе оценили медиану уровня витамина Д и частоту сниженного уровня витамина Д (30 нг/мл и менее) в квартильных группах отдельных АХВ.

Корреляционный анализ связи между уровнем АХВ и витамина Д у пациенток

г	Стирол	БФА	Кадмий	Ртуть	Свинец	Витамин Д
Стирол	1	-0,02870	-0,19111	-0,13515	-0,04817	0,09913
БФА	-0,02870	1	0,08288	-0,14325	-0,05011	-0,05825
Кадмий	-0,19111	0,08288	1	0,02281	0,05773	0,07540
Ртуть	-0,13515	-0,14325	0,02281	1	0,11939	0,04272
Свинец	-0,04817	-0,05011	0,05773	0,11939	1	
Витамин Д	0,09913	-0,05825	0,07540	0,04272	0,04755	1

При проведении данного анализа отмечена тенденция к снижению витамина Д у пациенток с повышенным уровнем органических веществ. Медина витамина Д составила 33,7-30,1-29,4-25,6 нг/мл в группах Q1-Q4 стирола, и 32,1-32,8-27,2-28,6 в группах Q1-Q4 бисфенола А. Соответственно, в подгруппах с более высоким содержанием органических веществ наблюдалась большая распространенность сниженного уровня витамина Д.

ОР сниженного уровня витамина Д у пациенток с уровнем **стирола** выше медианы (по сравнению с уровнем ниже медианы) составил 1,50 (95% ДИ 1,00; 2,26). **ОР сниженного уровня витамина Д** у пациенток с уровнем **бисфенола А** выше медианы (по сравнению с ниже медианы) составил 1,78 (95% ДИ 2,16; 2,72).

При анализе уровня витамина Д и частоты сниженного уровня витамина Д в различных квартильных группах тяжелых металлов не было найдено статистических различий.

Анализ содержания витамина Д в квартильных группах различных АХВ

Стирол	Q1	Q2	Q3	Q4	P*
Витамин Д медиана	33,7	30,1	29,4	25,6	0,0422
↓Витамин Д, n (%)	12 (48,0%)	8 (32,0%)	12 (48,0%)	18 (69,2%)	0,0681
БФА	Q1	Q2	Q3	Q4	
Витамин Д медиана	32,1	32,8	27,2	28,6	0,0459
↓Витамин Д, n (%)	9 (36,0%)	9 (36,0%)	14 (60,9%)	18 (66,7%)	0,0465
Свинец	Q1	Q2	Q3	Q4	
Витамин Д медиана	28,6	28,9	31,9	31,7	0,4769
↓Витамин Д, n (%)	15 (60,0%)	15 (60,0%)	8 (32,0%)	12 (48,0%)	0,1523
Ртуть	Q1	Q2	Q3	Q4	
Витамин Д медиана	27,7	31,7	30,2	28,9	0,4328
↓Витамин Д, n (%)	14 (56,0%)	10 (40,0%)	12 (48,0%)	14 (56,0%)	0,6245
Кадмий	Q1	Q2	Q3	Q4	
Витамин Д медиана	30,1	29,4	30,9	30,0	0,9367
↓Витамин Д, n (%)	12 (48,0%)	14 (53,8%)	12 (48,0%)	12 (48,0%)	0,9723

*Краскела-Уаллиса/ χ^2 -тест

Повышенное содержание органических АХВ (стирола и бисфенола А) в организме пациенток с бесплодием ассоциировано со снижением уровня витамина Д. Риск сниженного уровня витамина Д у пациенток с высоким уровнем стирола (выше медианы) увеличивается в 1,5 раз, у пациенток с высоким уровнем бисфенола А (выше медианы) – в 1,78 раз.

Глава 5. Обсуждение полученных результатов.

Бесплодие является одной из ключевых медико-социальных проблем современного общества. На распространенность бесплодия в популяции влияют различные факторы, в том числе гинекологические заболевания и инфекции, передающиеся половым путем, особенности образа жизни, а также позднее планирование беременности. Одним из наиболее ярких социальных трендов последних десятилетий является неуклонное увеличение числа пациенток, планирующих рождение детей на поздний репродуктивный возраст. Часть пациенток, откладывающих первую беременность на более поздний возраст, сталкиваются с проблемами с наступлением и вынашиванием беременности. Эти проблемы могли бы не возникнуть в более раннем возрасте, однако предсказать их появление в будущем пока что не представляется возможным.

Контакт с неблагоприятными факторами внешней среды редко приводит к необратимому и быстрому снижению фертильности. Однако те многочисленные неблагоприятные эффекты, которые оказывают поллютанты на репродуктивную систему человека, неизбежно приводят к прогрессивному снижению фертильности, увеличению времени до достижения беременности. Для пациенток позднего репродуктивного возраста и/или для пациенток со сниженным овариальным резервом временной фактор играет наиболее важную роль.

Все вышеизложенное послужило основанием для проведения данного исследования. Объектом для исследования были выбраны пациентки, проходящие лечение в программах ВРТ, так как данная категория пациенток представляет наиболее интересную группу для изучения. Во-первых, это женщины молодого возраста, без серьезных хронических заболеваний, прошедшие детальное клинико-лабораторное обследование. Данные пациентки постоянно находятся под медицинским наблюдением, им можно рекомендовать прием тех или иных лекарственных препаратов и получать

обратную связь. Кроме того, только в циклах ВРТ можно изучить эмбриологические параметры, а именно качество гамет и эмбрионов, которые являются одной из потенциальных мишеней для действия АХВ.

Для проведения исследования были использованы строгие критерии отбора пациенток. В исследование отбирали пациенток молодого возраста, с нормальным овариальным резервом, без тяжелой гинекологической патологии, т.е. наиболее перспективных для наступления беременности в циклах ВРТ. Аномалии или особенности кариотипа, метаболический синдром или ожирение, а также варианты патозооспермии, снижающие эффективность ВРТ, служили критериями исключения. Для уменьшения информационной ошибки исследования включали пациенток, постоянно проживающих на территории города Москвы не менее 5 лет.

Для оценки конфаундеров сравнили подгруппы пациенток с различными исходами ВРТ (беременность наступила/беременность отсутствует). Основным отличием в группах была частота бластуляции эмбрионов (выше в группе с наступившей беременностью), что также подтверждает вклад качества эмбрионов в эффективность ВРТ.

Первый этап исследования был посвящен оценке влияния АХВ на качество гамет, эмбрионов и эффективность циклов ВРТ. На данном этапе определяли концентрацию 3-х тяжелых металлов (кадмий, свинец, ртуть) и 2-х органических соединений (бисфенол А, стирол) в крови пациенток.

Интересной находкой послужила положительная корреляция между уровнем различных тяжелых металлов у одних и тех же пациенток (т.е. ртути, свинца и кадмия), что, вероятно, связано с наличием генетической предрасположенности к накоплению тяжелых металлов (т.к. металлы характеризуются длительным периодом выведения). Соответственно, при наличии генетических особенностей одни и те же пациенты будут иметь повышенный уровень различных металлов в организме. При этом отсутствовала прямая корреляционная связь между уровнем тяжелых металлов и органических соединений, и между разными органическими

соединениями. Данный факт можно объяснить двумя гипотезами: во-первых, источники повышенной экспозиции тяжелых металлов и органических соединений различаются; во-вторых, органические соединения характеризуются более коротким периодом выведения, и их метаболизм в организме человека менее изучен.

Вероятно, повышенное содержание органических веществ в организме пациенток более связано с особенностями образа жизни, чем с генетическими особенностями. Поэтому был создан опросник для оценки факторов образа жизни, связанных с повышенным накоплением различных АХВ в организме пациенток.

Выявлена связь **курения** с повышенным содержанием кадмия, свинца и ртути, при этом медианные уровни тяжелых металлов повышены у пациенток, которые курили ранее, а затем бросили, по сравнению с пациентками, которые никогда не курили. Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований: курение является известным фактором риска повышенной экспозиции тяжелых металлов [253, 254].

Более частое употребление **рыбы** (>1 раза в неделю) было ассоциировано с повышенным уровнем свинца и ртути. Основным путем попадания ртути в организм человека является алиментарный, а основным источником ртути является рыба, что объясняет полученные результаты. Именно по этой причине во многих странах мира профессиональные сообщества рекомендуют ограничивать употребление рыбы во время беременности [125, 255].

Частое употребление **консервированных продуктов из жестяных банок** (>1 раза в неделю) ассоциировано с повышенным уровнем свинца, кадмия, БФА и стирола. По данным различных исследований, употребление продуктов из жестяных банок является источником различных органических соединений, прежде всего различных бисфенолов и ПВХ [256, 257]. Помимо этого, сплавы, из которых изготовлены консервные банки, могут быть источником металлов, попадающих в продукты питания при длительном хранении [258]. Употребление рыбных консервов также может быть опасно, так как для

консервирования обычно используются сорта рыба, наиболее загрязненные ртутью (тунец), а использование жестяных банок является дополнительным фактором риска. По нашим данным, частое употребление консервированных продуктов не было связано с повышенным уровнем ртути, что, видимо, связано с низкой частотой употребления рыбных консервов в данной группе пациенток.

Частое употребление *готовой еды* и разогревание *пластиковой посуды в микроволновой печи* было ассоциировано с повышением всех изученных АХВ. В ранее проведенных исследованиях показано негативное влияние частого употребления готовой еды на риск бесплодия и время до наступления спонтанной беременности [56, 259], однако в данных работах не изучали концентрацию АХВ. В качестве возможной причины негативного влияния готовой еды на фертильность рассматривают нарушенное соотношение между белками, жирами и углеводами, низкое качество жиров, а также высокое содержание соли, усилителей вкуса и других пищевых добавок. Важным фактором является упаковка готовой еды, которая чаще всего состоит из пластика, содержащего различные органические АХВ. Некоторые блюда могут быть упакованы в горячем виде, что усиливает абсорбцию органических веществ, содержащихся в пластиковой упаковке. В экспериментальных исследованиях показана миграция БФА в содержимое пластиковой посуды, если для нагревания используется микроволновая печь [260, 261]. Полученные данные согласуются с исследованиями, проведенными в США, в которых показано повышение содержания различных АХВ при частом употреблении фастфуда [266, 267].

Учитывая результаты всех вышеперечисленных исследований, мы рекомендуем пациенткам, планирующим беременность, ограничить употребление готовой пищи, а также отказаться от разогревания пластиковой посуды в микроволновой печи.

Частое употребление *напитков из пластиковых бутылок* было ассоциировано с повышенной концентрацией органических АХВ – БФА и

стирола, а пациентки, которые указали бутилированную воду как основной источник питьевой воды, также имели повышенный уровень данных веществ. В основе данного явления также лежит миграция органических веществ в жидкое содержимое пластиковых бутылок, которая наиболее выражена при нагревании пластика [262]. Экспериментальные исследования показали, что максимальные концентрации органических АХВ регистрируются при нагревании пластиковых бутылок до температуры выше 40°C или при прямом попадании солнечных лучей [262, 263]. Использование водопроводной воды в качестве основного источника питьевой воды было ассоциировано с повышенным уровнем свинца, по данным нашего исследования. Свинец может попадать в воду из водопроводных труб, особенно при увеличении срока использования труб [264]. Именно с загрязнением водопроводной воды связан т.н. Кризис Водоснабжения Флинта, когда в 2014 году в результате изменения источника водоснабжения (река Флинт вместо озера Гурон) более 100 000 жителей штата Мичиган были подвержены повышенной экспозиции свинца [265].

Пациентки, имеющие *низкую физическую активность* (сидячая работа, без спортивных нагрузок) имели повышенный уровень свинца и стирола. Связь между физической активностью и загрязнением воздуха изучалась различными научными группами [268–270]. Результаты данных исследований противоречивы: с одной стороны, повышение физической активности является важным и легко реализуемым методом повышения качества жизни, профилактики сердечно-сосудистых и других неинфекционных заболеваний. С другой стороны, при занятиях спортом на свежем воздухе усиливается ингаляция токсических веществ, если воздух сильно загрязнен. Большинство исследователей сходятся во мнении, что даже загрязнение воздуха не должно быть основанием для отмены или ограничения занятий спортом, в том числе и на открытом воздухе. По данным нашего исследования, пациентки с низкой физической активностью имели повышенный уровень свинца и стирола – то есть веществ, попадающих в организм человека ингаляционно, при этом

высокое содержание стирола характерно более для воздуха внутри помещений, а свинец может присутствовать в воздухе как внутри, так и вне помещений. На основании полученных данным можно рекомендовать пациенткам увеличивать физическую нагрузку как внутри помещений, так и на открытом воздухе.

Пациентки, которые проводят *на открытом воздухе менее* 1 часа в день, имели повышенный уровень кадмия, а пациентки, работающие в условиях *закрытого помещения и небольшого кабинета*, имели повышенный уровень свинца. Полученные данные согласуются с результатами аналогичных исследований, в которых показано, что воздух в закрытых помещениях имеет повышенные концентрации кадмия, свинца и других тяжелых металлов [271, 272].

Проживающие на *низких (1-4) этажах* пациентки имели повышенный уровень свинца. При анализе научной литературы нами не было найдено аналогичных исследований. Вероятно, данный факт связан с повышенной концентрацией выхлопных газов в нижних слоях воздуха. Также, возможно, жители более высоких этажей чаще устанавливают приточную вентиляцию и другие устройства для очищения воздуха, однако данный фактор мы в исследовании не учитывали. Интересно, что пациентки, постоянно проживающие за городом, имели повышенный уровень одного из АХВ – стирола. Данные литературы, в основном, демонстрируют сниженную экспозицию различных АХВ при проживании за пределами города или в сельской местности [273]. Вероятно, повышенный уровень стирола у жителей загородных домов связан с использованием внутренних отделочных материалов, содержащих стирол. Кроме того, нужно учитывать, что в исследование были включены только жители Москвы и Московской области, и полученные результаты нельзя экстраполировать на жителей сельской местности других регионов.

Частое использование *наличных денежных средств* (>1 раза в неделю) было ассоциировано с повышенным уровнем кадмия и свинца. При анализе

научной литературы не было найдено аналогичных исследований. Краска, используемая для печати денежных купюр, может попадать в организм человека трансдермально при частом использовании. Поэтому можно рекомендовать пациенткам ограничить использование наличных денежных средств, или как минимум тщательно мыть руки после контакта с ними.

Основным отличием нашего исследования от опубликованных аналогов является определение нескольких АХВ из различных групп, что позволило разработать условную балльную шкалу и разделить пациенток на группы с высоким и низким содержанием веществ. При оценке *клинико-анамнестических характеристик* в группах были получены следующие различия: пациентки с высоким уровнем АХВ имели более высокий средний вес (но не индекс массы тела) и более высокую распространённость первичного бесплодия.

Ассоциация между контактом с вредными веществами и избыточной массой тела/ожирением/метаболическим синдромом является ключевой темой исследования различных научных групп [274–276]. Патогенетические механизмы данного явления остаются предметом дискуссии, хотя наиболее вероятным является повреждение эндокринной системы, так как большинство из вредных веществ имеют активность «эндокринных разрушителей» в большей или меньшей степени. В литературе описана связь загрязнения окружающей среды с инсулинорезистентностью, нарушением работы серотонинергической системы, а также с изменением микробиоты кишечника [275]. Следует помнить, что повышенный контакт с вредными веществами в обычной жизни тесно связан с образом жизни и ежедневными привычками, которые также оказывают значимое влияние на метаболизм, вес, особенности распределения жировой ткани и другие показатели здоровья человека. В нашем исследовании мы отметили более высокую среднюю массу тела у пациенток с высоким содержанием АХВ в организме, при этом средние показатели ИМТ не различались. Вероятно, причиной данной находки явилось исключение пациенток с ожирением (≥ 30 кг/м²), и небольшая доля пациенток

с избыточной массой тела (39 человек, 13,0%). Причиной более высокой распространенности первичного бесплодия у пациенток с высоким уровнем АХВ, вероятно, является влияние данных веществ на качество половых клеток и стероидогенез в яичниках.

Среди *соматических заболеваний* различия отмечены для аллергических заболеваний, частота которых была выше у пациенток с высоким уровнем АХВ. Одним из негативных трендов современного мира является неуклонный рост распространенности аллергических заболеваний, что иммунологи объясняют популярностью «западного» образа жизни, который характеризуется урбанизацией, редким нахождением на свежем воздухе, частым использованием антибиотиков, других лекарственных препаратов и т.д. [277]. Все эти изменения приводят к повышению воздействия загрязнения воздуха, грибков, инфекционных агентов, табачного дыма и других факторов на организм человека и его иммунную систему, что объясняет связь между АХВ и аллергическими заболеваниями.

При оценке *эмбриологического этапа* отмечено значительное снижение качества эмбрионов у пациенток с высоким уровнем АХВ. Число бластоцист и уровень бластуляции (отношение числа бластоцист к числу зигот) были значимо выше в группе пациенток с низким уровнем АХВ. Относительный риск низкого уровня бластуляции в группе пациенток с высоким уровнем АХВ составил 1,34 (95% ДИ 0,97; 1,85). Уровень бластуляции (отношение числа бластоцист к общему числу зигот) рассматривается как основной показатель качества эмбриологического этапа, так как, во-первых это наиболее объективный показатель (оценка морфологии бластоцист более субъективна), во-вторых, число бластоцист является основным предиктором эффективности ВРТ [278]. Негативное влияние органических АХВ на ооциты и эмбрионы (индукция апоптоза, нарушение митотического и редукционного деления) показано на моделях животных [279]. Аналогичное воздействие предполагается также у человека, хотя патогенетические механизмы воздействия АХВ не до конца изучены [6]. В нашем исследовании не было

отмечено различий в других показателях эмбриологического этапа у пациенток с различным уровнем АХВ.

При оценке *клинических исходов* циклов ВРТ отмечена тенденция к снижению частоты наступления клинической беременности и повышению частоты ранних репродуктивных потерь у женщин с высоким уровнем АХВ, хотя различия не достигли статистической значимости. В группе пациенток с низким уровнем АХВ частота наступления беременности была ниже в 1,2 раза, а частота родов выше в 1,3 раза. Напротив, у пациенток с высоким уровнем АХВ частота ранних репродуктивных потерь была выше в 1,57 раз.

Полученные данные в целом согласуются с данными литературы: в исследованиях показано влияние АХВ на различные аспекты эмбриологического этапа, параметры спермограммы или концентрацию стероидных гормонов, однако прямой связи между уровнем АХВ и клиническими исходами не зарегистрировано [280]. Отсутствие четкой статистической связи между уровнем АХВ и исходами ВРТ затрудняет вычисление пороговых уровней для отдельных веществ. Однако большинство исследователей придерживаются мнения, что АХВ могут оказывать токсическое влияние даже в небольших концентрациях [281]. Полученные данные подтверждают токсическое воздействие АХВ на репродуктивную систему человека, в особенности при сочетанном воздействии нескольких веществ.

В рамках данного исследования определяли содержание одного из органических веществ (бисфенол А) в *фолликулярной жидкости* пациенток. БФА был обнаружен в 16,8% (49/292) образцах фолликулярной жидкости, при этом не обнаружено статистической связи между уровнем БФА в крови и ФЖ у одних и тех же пациенток ($r = -0,0517$, $p = 0,3792$). Существует ограниченное число исследований, посвященных оценке уровня эндокринных разрушителей в биологических жидкостях пациенток. Результаты подобных исследований противоречивы, так как во всех работах используются разные методы определения эндокринных разрушителей, а объектом исследования являются

различные категории пациенток, исследуются различные вещества [282]. Мы предполагаем, что отсутствие связи между уровнем бисфенола А в крови и фолликулярной жидкости пациенток может быть связано с различной скоростью метаболизма бисфенола А в фолликулярной жидкости (возможно, вследствие генетических особенностей) или различной длительностью экспозиции данного вещества, что является предпосылкой для дальнейших исследований.

Основным объектом нашего интереса была оценка влияния уровня бисфенола А в фолликулярной жидкости на параметры оогенеза и раннего эмбриогенеза, так как, вероятно, содержание веществ в фолликулярной жидкости более точно коррелирует с качеством ооцитов, по сравнению с содержанием аналогичных веществ в крови. Тем не менее, в нашем исследовании не было найдено связи между уровнем бисфенола А в ФЖ, количеством ооцитов и эмбрионов. В аналогичном исследовании Poormoosavi *et al.* уровень эндокринных разрушителей в фолликулярной жидкости негативно влияет на количество ооцитов, а также на частоту возникновения морфологических аномалий ооцитов, что противоречит нашим данным [283]. Также в нашем исследовании не найдено различий при сравнении параметров оогенеза и раннего эмбриогенеза у пациенток с определяемой и неопределяемой концентрацией бисфенола А в ФЖ.

Следует отметить, что средние и максимальные уровни бисфенола А в фолликулярной жидкости значительно ниже, по сравнению с содержанием бисфенола А в крови; аналогичные результаты описаны в литературе [283]. Однако при более подробном анализе группы пациенток с определяемым уровнем бисфенола А в ФЖ обнаружено, что в половине случаев (n=24) уровень бисфенола А в ФЖ был выше, чем в крови. В данной подгруппе пациенток наблюдали тенденцию к снижению количества ооцитов и эмбрионов. Негативное влияние эндокринных разрушителей на транскрипционный профиль генов кумулюсных клеток показано в различных исследованиях [284, 285], что может объяснять снижение частоты

бластуляции у данных пациенток. Однако остается неясным вопрос, почему подобная тенденция характерна только для тех пациенток, у которых уровень бисфенола А в ФЖ выше, чем в крови. Нужно учитывать, что бисфенол А может попадать в яичник, и, соответственно, в фолликулярную жидкость только через системный кровоток. Вероятно, соотношение между уровнем эндокринных разрушителей в различных биологических тканях определяется индивидуальными особенностями гистогематических барьеров и системы биотрансформации ксенобиотиков. Интересной находкой нашего исследования является корреляционная связь между соотношением уровня БФА в ФЖ/крови и индексом массы тела пациенток, что открывает перспективы для будущих исследований.

В последней части первого этапа исследования проанализировали содержание органических веществ в организме *мужчин в программах ВРТ*.

Отмечена положительная корреляционная связь между уровнем стирола в организме пациенток и их супругов ($r= 0,6924$, $p<0,0001$), а также положительная корреляционная связь между уровнем бисфенола А в организме пациенток и их супругов ($r= 0,5343$, $p<0,0001$). Интересно, что уровень органических веществ в крови пациенток имел корреляционную связь с уровнем данных веществ у их супругов, но не с уровнем данных веществ в других биологических тканях тех же пациенток (фолликулярная жидкость). В нашем исследовании уровень бисфенола А был выше у мужчин, чем у женщин, что отличается от общепринятого мнения. Предполагается, что женщины более подвержены экспозиции БФА, так как, во-первых, женщины чаще заняты приготовлением пищи (т.е. контактируют с пластиком на кухне), а во-вторых, чаще работают продавцами и кассирами (контакт с термобумагой) [286].

Значимая положительная корреляция между уровнем бисфенола А у супругов свидетельствует о том, что большую роль в экспозиции БФА играет образ жизни и повседневные привычки – использование различных видов упаковочного материала, частота употребления консервов, пластиковой

посуды, рацион питания. Возможно, определенную роль в повышенной экспозиции бисфенола А играет район проживания – данный вопрос требует проведения крупных эпидемиологических исследований.

Помимо прямого повреждающего воздействия на репродуктивные ткани, приводящее к нарушению сперматогенеза, субфертильности и бесплодию, изменения в ДНК сперматозоидов могут влиять на здоровье будущих поколений. Трансгенерационное воздействие, т.е. влияние эндокринных разрушителей на здоровье и фертильность нескольких поколений было продемонстрировано на моделях мышей [287]. Аналогичные исследования не могут быть воспроизведены на человеке, однако подобное влияние эндокринных разрушителей на репродуктивное здоровье человека представляется весьма вероятным.

Следует отметить, что патогенез влияния бисфенола А на сперматогенез до конца не изучен. Наиболее вероятным механизмом является повреждение рецепторов к гонадотропинам и стероидным гормонам, влияние на стероидогенез, а также прямое повреждение сперматогенного эпителия и сперматозоидов [288]. Однако механизмы воздействия на фертильность и другие параметры здоровья следующих поколений вызывают много вопросов.

Особого внимания в данном исследовании заслуживает выявленная связь между повышением уровня бисфенола А в крови мужчин и невынашиванием беременности после программ ВРТ. Наиболее вероятным механизмом влияния бисфенола А на риск невынашивания беременности является воздействие на целостность ДНК сперматозоидов и на мейоз (аналогичные результаты выявлены на моделях животных). Полученные нами данные не согласуются с исследованием Dodge L., в котором при анализе 211 циклов ВРТ не было найдено связи между уровнем фенолов в моче мужчин и результатами ВРТ [289].

Уровень стирола в крови мужчин не был связан с показателями спермограммы, однако повышенный уровень стирола негативно влиял на частоту наступления и живорождения: при наличии высокого уровня стирола

(Q4) по сравнению с низким уровнем стирола (Q1-Q3) частота наступления беременности была ниже в 3,6 раз; частота родов – в 2,6 раз.

При анализе научной литературы за последние 10 лет нами не было найдено исследований, в которых проводился анализ эффективности ВРТ и уровня стирола у мужчин, в имеющихся работах в качестве конечной точки рассматривали показатели спермограммы/уровни гормонов. В исследовании ученых из Италии определяли связь между содержанием различных органических веществ (в том числе стирола и его метаболитов) и показателями окислительного стресса в семенной плазме мужчин. В данной работе показано влияние повышенного уровня органических веществ на различное формирование метаболических путей в семенной плазме, что может быть патогенетической основой снижения фертильности за счет повреждения иммунологических механизмов [149]. Нарушение механизмов иммунологии малых сроков беременности рассматривается как один из механизмов повышения частоты ранних репродуктивных потерь у мужчин и женщин с повышенным уровнем бисфенола А, как обсуждалось ранее.

Следующая часть исследования была посвящена изучению *генетических особенностей системы детоксикации* и их связи с содержанием АХВ. Согласно полученным данным, уровень ртути в крови пациенток увеличивался с возрастом пациентки, а уровень кадмия был выше у курящих пациенток и у пациенток с избыточной массой тела (при этом высокий уровень АХВ на первом этапе исследования не был связан с возрастом или ИМТ пациенток).

Ртуть характеризуется небольшим относительно других тяжелых металлов периодом полувыведения (около 60-70 дней). Все люди подвергаются воздействию ртути, однако факторами повышенной экспозиции являются регулярное употребление контаминированных продуктов (рыба, моллюски) или контакт с парами ртути на производстве. Для уменьшения информационной ошибки в исследование были включены только пациентки, не имеющие профессиональных вредностей, поэтому повышение уровня

ртути вследствие контакта с данным металлом на производстве может быть исключено. Наиболее вероятной причиной повышению уровня ртути у пациенток позднего репродуктивного возраста является накопление данного поллютанта с возрастом вследствие более длительной экспозиции.

Ассоциация между повышенным уровнем кадмия и курением подтверждена многими исследовательскими группами [22, 110]. При активном и пассивном курении кадмий попадает в организм ингаляционно с вдыхаемым дымом. Что касается ассоциации между кадмием и индексом массы тела пациентки, такие корреляции не выявлены в аналогичных исследованиях. Возможным механизмом является изменение метаболизма кадмия (кровь-паренхиматозные органы-кровь) в зависимости от метаболических особенностей пациентки.

Глутатион-S-трансферазы (GST) – это семейство ферментов 2 фазы детоксикации, которые играют ключевую роль в защите клеток от экзогенных токсических веществ. Данное семейство белков катализирует конъюгацию восстановленного глутатиона с различными электрофильными и гидрофобными соединениями. Человеческие ферменты класса GST можно разделить на 5 основных классов: альфа, мю, пи, тета и дзета. Гены, кодирующие синтез данных ферментов, характеризуются значительным популяционным полиморфизмом. Альтернативный сплайсинг генов *GSTT1* и *GSTP1* может приводить к множеству вариантов транскриптов. Роль полиморфных вариантов генов *GST* изучалась многими научными группами; полиморфизмы данного гена увеличивают риск сердечно-сосудистых [13], онкологических [178] и иммунологических [179–181] заболеваний, а также влияют на фармакодинамику лекарственных средств [182].

Ген *CYP1A1* кодирует фермент цитохром P4501A1, который относится к суперсемейству ферментов цитохрома P450. Белки цитохрома P450 представляют собой монооксигеназы, которые катализируют многие реакции, участвующие в метаболизме ксенобиотиков и лекарственных средств, синтезе холестерина, стероидов и других липидов. Данный белок располагается в

эндоплазматическом ретикулуме, а его экспрессия индуцируется некоторыми полициклическими ароматическими углеводородами. Эндогенный субстрат данного белка на сегодняшний день не известен, однако известно, что в процессе трансформации ПАУ синтезируются канцерогенные соединения, поэтому полиморфные варианты данного гена увеличивают риск рака легкого у курильщиков [290]. Также существуют данные о связи данного гена с развитием других онкологических заболеваний [291, 292].

В нашем исследовании была выявлена связь между полиморфизмами генов системы детоксикации и уровнем тяжелых металлов в организме женщины, а также сочетанное влияние тяжелых металлов и полиморфных вариантов генов на *низкий уровень фертилизации ооцитов*. При анализе научной литературы нами не было найдено аналогичных данных.

Делеция гена *GSTT1* ассоциирована с повышением ртути в крови женщины. Отсутствие аллеля G в гене *GSTP1* связано с повышением уровня кадмия в крови женщины. Наличие аллеля T в гене *CYP1A1* ассоциировано с повышением уровня как ртути, так и кадмия в крови женщины.

Сочетанное воздействие полиморфного варианта *CYP1A1* и повышенного уровня свинца приводило к снижению уровня фертилизации ооцитов, но не влияло на уровень бластуляции эмбрионов и на клинические исходы ВРТ (частота наступления беременности, частота живорождения).

Оплодотворение ооцитов – это сложный каскад молекулярных событий, в результате которых происходит снятие блока II мейотического деления и возобновление мейоза, формирование зиготы с материнским и отцовским пронуклеусом. Цитоплазма ооцита реорганизуется, происходит активация генов, ответственных за пролиферацию и дифференцировку, а также распределение органелл по различным полюсам ооцита, что необходимо для равномерного распределения органелл среди бластомеров эмбриона. Наиболее вероятным патогенетическим механизмом влияния тяжелых металлов на процесс фертилизации ооцита является нарушение

внутриклеточного метаболизма кальция или повреждения веретена деления, однако данный вопрос требует дальнейшего подтверждения.

Затем был проведен аналогичных анализ для органических веществ (*бисфенола А и стирола*). Избыточная масса тела пациентки была ассоциирована с наличием БФА в фолликулярной жидкости, однако медиана БФА в крови, напротив, была выше у пациенток с нормальной массой тела. Ассоциация между повышенной экспозицией БПА и ожирением изучалась несколькими научными группами [293–295]. Наиболее вероятным механизмом является изменение функции адипоцитов под воздействием данного вещества. Menale С. *et al.* продемонстрировали повышение экспрессии провоспалительных цитокинов и генов *FABP4* и *CD36* (задействованы в метаболизме липидов) и снижение экспрессии гена *PCSK1* (задействован в синтезе инсулина) при воздействии БФА на адипоциты *in vitro* [296]. Возможно, избыточная масса тела может влиять на метаболизм БФА в организме человека и его способность проникать через гистогематические барьеры.

Метаболизм БФА в организме млекопитающих в основном изучен на моделях животных или тканях человека *in vitro*. Печень является основным местом метаболизма БФА, где большая часть данного вещества претерпевают биотрансформацию и последующую экскрецию в виде инертных соединений. В экспериментальных работах подтверждена роль различных ферментов детоксикации в метаболизме БФА [297]. В нашем исследовании уровень БФА в крови пациенток был погранично значимо связан с полиморфизмом гена *GST* (глутатион-S-трансферазы). Похожие данные были получены в исследовании Yu Min Lee *et al.*, которые показали сочетанное влияние БФА и полиморфизма гена *GST* у беременных женщин на синдром задержки роста плода [298]. Частота определения БФА в фолликулярной жидкости находилась в ассоциации с полиморфными вариантами генов *SULT1A1* (статистически значимые различия), *SOD2* и *CYP1A1* (ферменты 1 и 2 фазы детоксикации). При анализе научной литературы нами не было найдено исследований, в

которых анализировали частоту определения БФА в различных биологических средах в зависимости от генетических особенностей системы детоксикации. Во время 2 фазы детоксикации (фаза конъюгации) происходит присоединение гидрофильных групп к токсичного вещества с помощью соответствующих ферментов (например, сульфотрансфераза передает сульфатную группу). Биологический смысл данного явления заключается в том, что метаболиты исходного вещества становятся менее токсичными и легче подвергаются экскреции. Вероятно, метаболиты БФА теряют способность проникать через определенные гистогематические барьеры, что может объяснить связь между полиморфизмом генов детоксикации и частотой определения БФА в фолликулярной жидкости. Однако данная гипотеза требует подтверждения в дальнейших исследованиях.

Также оценили сочетанное влияние вариантов генов детоксикации и БФА на исходы циклов ВРТ. Отмечено сочетанное влияние *CYP1A1* и наличия БФА в фолликулярной жидкости на уровень бластуляции эмбрионов (погранично значимые различия, $p=0,0720$).

Патогенетические механизмы влияния эндокринных разрушителей на качество гамет человека остаются полностью не изученными. Большинство исследований в данной области проведены на моделях животных и не могут быть полностью экстраполированы на человека. Различные научные группы показали, что воздействие бисфенолов на самцов грызунов приводит к нарушению сперматогенеза: снижается концентрация сперматозоидов и синтез стероидных гормонов (при воздействии на взрослых особей), уменьшается жизнеспособность сперматозоидов и нарушается конденсация хроматина (при воздействии на особей в молодом возрасте/пренатальном воздействии) [299–301]. То есть чем раньше произошел контакт с эндокринными разрушителями, тем более выраженными будут негативными эффекты: например, у мужчин концентрация сперматозоидов является относительно модифицируемым фактором, в то время как жизнеспособность

сперматозоидов и их генетическая стабильность практически резистентны к внешним воздействиям.

В нескольких исследованиях изучали влияние эндокринных разрушителей на качество ооцитов млекопитающих, и результаты данных исследований пессимистичны. Группа исследователей из США отметили нарушение формирования веретена деления и повышенный риск хромосомных аномалий в ооцитах крупного рогатого скота, которые были подвержены воздействию низких доз бисфенола А *in vitro* [302]. В другом исследовании мыши, которые получали бисфенол А перорально в течение 2 недель, имели значительно более низкую частоту фертилизации ооцитов, по сравнению с контрольной группой [303]. В исследовании ученых из Китая экспозиции бисфенола А подвергали как денудированные ооциты, так и ооцит-кумулюсные комплексы (ооциты свиньи): отмечено снижение пролиферации клеток кумулюса, нарушение экстрюзии полярного тела, нарушение формирования веретена деления, снижение уровня АТФ и высокую частоту апоптоза, что демонстрирует широкий спектр воздействия токсических веществ на оогенез млекопитающих [304].

В нескольких исследованиях отмечена негативная ассоциация между экспозицией бисфенола А, уровнем тестостерона, концентрацией сперматозоидов и показателями ДНК-фрагментации [305, 306]. Проведение исследований, направленных на оценку влияния эндокринных разрушителей на ооциты человека, ограничены этическими сложностями, однако предполагаются патогенетические механизмы, аналогичные полученным на животных моделях.

Полученные данные о сочетанном влиянии бисфенола А и генетических особенностей 1 фазы детоксикации на уровень бластуляции свидетельствуют о том, что негативное влияние эндокринных разрушителей на качество эмбрионов наиболее выражено при снижении способности организма к детоксикации экзогенных веществ.

Также было отмечено сочетанное влияние уровня стирола в крови пациентки и наличия полиморфизма гена *NAT2* на частоту живорождения, но не на частоту наступления беременности в циклах ВРТ. При анализе научной литературы не было найдено данных об ассоциации между уровнем стирола и исходами ВРТ. Интересно, что среди всех изученных исходов ВРТ отмечено негативное влияние стирола только на частоту живорождения, но не на частоту фертилизации/бластуляции или вероятность наступления клинической беременности. Полученные данные вновь поднимают вопрос патогенеза влияния органических веществ на репродуктивную систему человека. Например, если бы основным патогенетическим механизмом служило повреждение веретена деления/выработки АТФ (что показано на моделях животных), вероятно, в результате снижалась бы частота дробления эмбрионов и частота наступления беременности – показатели, которые напрямую зависят от хромосомного набора эмбрионов.

В 2017 году группа ученых из Стенфордского Университета в Калифорнии провели исследование, результаты которого в целом соотносятся с полученными нами данными. В данной работе проводили анализ содержания бисфенола А у женщин на разных сроках беременности, и затем сопоставляли полученные данные с исходами беременности (роды/неразвивающаяся беременность), а при прерывании беременности в 1 триместре – с кариотипом абортуса (нормальный/аномальный кариотип). Уровень БФА был значительно выше у пациенток с неразвивающейся беременностью (0,39 нг/мл против 0,16 нг/мл, $p < 0,05$). Кроме того, при анализе подгруппы пациенток с прервавшейся беременностью авторы отметили более высокий средний уровень бисфенола А в подгруппе пациенток с нормальным кариотипом абортуса (0,6 нг/мл) по сравнению с пациентками с аномальным кариотипом абортуса (0,3 нг/мл) [307]. Таким образом, отмечена связь между высоким содержанием БФА и повышенным риском ранних репродуктивных потерь, а также сделано предположение, что основным механизмом является не хромосомные нарушения эмбриона. Существуют предположения о влиянии эндокринных

разрушителей на рецепторы к прогестерону в эндометрии [308], на эндоканнабиоидную систему при беременности [309], на соотношение между провоспалительными и противовоспалительными маркерами [310]. Похожие механизмы могут лежать в основе патогенеза воздействия любых органических веществ на репродуктивную систему человека.

Второй этап исследования посвящен оценке эффективности антиоксидантной терапии у пациенток с различным уровнем АХВ. Назначение различных витаминов и антиоксидантов является распространенным трендом в современной репродуктивной медицине, однако оценка эффективности подобной терапии сопряжена с различными сложностями. Во-первых, сложно учитывать антиоксиданты, поступающие с пищей, при этом особенности диеты и образа жизни также могут оказывать влияние на репродуктивное здоровье. Во-вторых, большинство из пероральных антиоксидантов зарегистрированы как биологически активные добавки, их реализация происходит не только через аптечные сети, но и в супермаркетах/спортивных клубах, что затрудняет их учет. В-третьих, в различных исследованиях изучали различные дозы и препараты, а в качестве конечных точек использовали различные параметры (качество спермы, эмбриологические характеристики, результаты циклов ВРТ), которые в свою очередь могут зависеть от наличия множества факторов риска.

Для большинства пациенток подготовка к программам ВРТ сопряжена с большим эмоциональным стрессом. Проведение исследований, направленных на оценку эффективности антиоксидантных препаратов, является важной задачей, поскольку пациентам должны быть предоставлены объективные данные исследований, которые позволят им принимать решение о приеме данных препаратов.

Клинико-анамнестические характеристики не различались между группами на данном этапе исследования. При оценке эмбриологического этапа наблюдали тенденцию к повышению доли зрелых ооцитов в группе пациенток с высоким уровнем АХВ, получавших терапию. Данные

литературы о влиянии антиоксидантной терапии на эмбриологические параметры циклов ВРТ противоречивы. В части исследований не показано влияния препаратов на качество ооцитов и эмбрионов [311, 312]. Однако в других работах продемонстрировано повышение качества эмбрионов при назначении «средиземноморской диеты» [313] или пероральных антиоксидантов [246]. Авторы вышеуказанных исследований предполагают положительное влияние антиоксидантов на метаболические процессы в яичниках, однако подчеркивают необходимость проведения дальнейших исследований в данной области.

При оценке клинических результатов циклов ВРТ отмечена тенденция к повышению частоты наступления клинической беременности и родов у пациенток с высоким уровнем АХВ, получавших антиоксидантную терапию.

Число пациентов, подвергаемых лечению, для группы пациенток с высоким уровнем АХВ составило 9. Полученные результаты позволяют рекомендовать назначение пероральных антиоксидантов для подготовки пациенток к программам ВРТ.

На **финальном этапе** исследования оценили связь между уровнем различных АХВ и содержанием витамина Д.

Проанализировано содержание витамина Д в крови 100 пациенток, не имеющих известных факторов риска дефицита витамина Д [241]. Распространенность ненормального уровня витамина Д составила 50%, что в целом соотносится с данными национальных исследований [223, 314].

При оценке генетических особенностей рецептора к витамину Д выявлены полиморфные варианты, повышающие риск дефицита витамина Д (отсутствие аллеля С гена *VDR* (TaqI-rs731236), отсутствие аллеля А гена *VDR* (BsmI-rs1544410)).

Однако основным интересом данного этапа был анализ связи между витамином Д и различными антропогенными загрязнителями. При проведении корреляционного анализа подобной связи не отмечено. При

разделении пациенток на группы (высокий/низкий уровень АХВ) медианные показатели витамина Д также не различались.

Поэтому для проведения дальнейшего статистического анализа проведена оценка уровня витамина Д и частоты недостаточного уровня витамина Д у пациенток в квартильных группах различных АХВ. При разделении пациенток на квартильные группы *металлов связи с витамином Д* также не отмечено.

Напротив, отмечена тенденция к снижению медианного уровня витамина Д и повышению частоты недостаточного уровня витамина Д у пациенток с Q3-Q4 уровнем органических веществ по сравнению с Q1-Q2 уровнем. В результате, пациентки с высоким (выше медианы) уровнем стирола в 1,5 раза чаще, а пациентки с высоким уровнем БФА – в 1,8 раз чаще имели недостаточный уровень витамина Д. Ассоциация между содержанием органических АХВ и витамином Д у человека описана в нескольких исследованиях. Например, по результатам Национального исследования Здоровья и Питания в США (англ. United States National Health and Nutrition Examination Surve, NHANES), повышенный уровень перфторалкилов ассоциированы со снижением уровня витамина Д у взрослых после корректировки по полу, возрасту и национальности [315]. По данным ученых из Мичиганского Университета, высокая концентрация фталатов у беременных женщин повышает риск дефицита витамина Д [315].

Обсуждая возможные патогенетические механизмы связи между органическими соединениями и витамином Д, следует дополнительно рассмотреть механизмы действия эндокринных разрушителей. Эндокринные разрушители характеризуются неспецифическим влиянием на эндокринную систему и способностью оказывать негативное влияние на различные метаболические пути: например, для ПВХ известны одновременно эстрогенные, антигестагенные и антитиреоидные свойства. Витамин Д является прогормоном, а для его трансформации в активную форму требуется сочетанное действие нескольких ферментных систем, которые объединены

названием «эндокринная система витамина Д» [227]. К «эндокринной системе витамина Д» относят все органы и ткани, отвечающие за процессы гидроксилирования витамина Д. Первый этап гидроксилирования происходит в печени и превращает витамин Д в 25-гидроксивитамин Д [25(ОН)Д], также известный как кальцитриол. Второй этап гидроксилирования происходит преимущественно в почках (с участием фермента – 1 α -гидроксилазы), и его результатом является синтез активного D-гормона, 1,25-дигидроксивитамина Д [1,25(ОН) $_2$ Д] [241]. Уровни кальцитриола в крови определяются большей частью активностью цитохрома CYP27B1 в почках, находящейся под контролем паратиреоидного гормона, и регулируются отрицательной обратной связью, которая замыкается ингибированием CYP27B1 высокими концентрациями самого кальцитриола и фактора роста фибробластов 23. Ограничению образования активной формы витамина способствует стимуляция фермента CYP24A1 (24-гидроксилазы), который превращает кальцитриол в неактивную, водорастворимую форму кальцитроевой кислоты, в дальнейшем выводимой из организма с желчью. Фактор роста фибробластов 23, секретируемый преимущественно остеоцитами, т.е. костной тканью, способствует активации 24-гидроксилазы в ответ на высокие концентрации D-гормона и повышение концентрации фосфора в крови

Можно предположить несколько патогенетических механизмов влияния эндокринных разрушителей на «эндокринную систему витамина Д». *Во-первых*, химическая структура витамина Д похожа на структуру стероидных гормонов, а его ядерный рецептор относится к тому же суперсемейству белков, что и рецепторы к стероидным гормонам [315], что делает вероятным прямое воздействие АХВ на рецепторы витамина Д. *Во-вторых*, эндокринные разрушители могут снижать экспрессию ферментов, ответственных за гидроксилирование витамина Д, что получило подтверждение в исследованиях на животных [316]. *Третьим возможным механизмом* является воздействие эндокринных разрушителей на систему обмена кальция и синтеза

паратгормона, что способствует катаболизму витамина Д: исследования на грызунах подтверждают данную гипотезу [317].

Выводы:

1. Факторами риска, ассоциированными с повышенной экспозицией АХВ, являются: частое (>1 раза в неделю) употребление рыбы, консервированных продуктов из жестяных банок, готовой еды, напитков из пластиковых бутылок, использование наличных денежных средств, курение, разогревание пластиковой посуды в микроволновой печи, низкая физическая активность, недостаточное (<1 часа в день) пребывание на открытом воздухе, работа в условиях небольшого закрытого помещения и проживание на 1-4 этажах зданий.

2. Клинико-anamнестическими особенностями женщин с высоким уровнем АХВ являются: преобладание первичного бесплодия (48,6% против 37,7%, $p=0,0150$), более высокая масса тела (62,7 кг против 61,6 кг, $p=0,0164$) и повышенная частота аллергических заболеваний (16,5% против 9,4%, $p=0,0535$).

3. Содержание органических АХВ в организме пациенток имеет значимую положительную корреляционную связь с содержанием данных веществ в организме их супругов. Для бисфенола А коэффициент корреляции (r) составляет 0,5343 ($p<0,0001$), для стирола - 0,6924, ($p<0,0001$).

4. Уровень БФА в крови у мужчин $\geq 2,14$ нг/мл ассоциирован со снижением концентрации сперматозоидов в 1,4 раза. Уровень БФА в крови у мужчин $>0,4$ нг/мл повышает вероятность выкидыша в 1 триместре у женщин в 4,1 раза.

5. Уровень стирола в крови у мужчин не связан с концентрацией, подвижностью и морфологией сперматозоидов. При этом уровень стирола $\geq 15,4$ нг/мл снижает частоту наступления беременности в циклах ВРТ в 3,6 раза, частоту родов – в 2,6 раза.

6. Повышение уровня свинца в крови пациенток ассоциировано со снижением частоты оплодотворения ооцитов ($r= -0,1404$, $p<0,05$), повышение уровня кадмия - со снижением числа полученных бластоцист ($r= - 0,1168$,

$p < 0,05$) и частоты бластуляции ($r = - 0,1421$, $p < 0,05$). Относительный риск снижения частоты бластуляции ($< 30\%$) у пациенток с высоким уровнем АХВ составляет 1,34 (95% ДИ 0,97; 1,85).

7. При повышенном уровне АХВ частота наступления беременности снижается в 1,4 раза, частота выкидыша увеличивается в 1,5 раза, что приводит к снижению частоты родов в 1,5 раза.

8. Уровень тяжелых металлов в организме пациенток зависит от генетических особенностей системы детоксикации. Выявлены аллельные варианты (отсутствие делеции гена *GSTT1*, наличие аллеля G гена *GSTP1rs1695* и аллеля A гена *SULT1A1rs9282861*, отсутствие аллеля T гена *CYP1A1rs4646903*), которые имеют протективное значение и предотвращают накопление тяжелых металлов в крови. Одним из патогенетических механизмов воздействия тяжелых металлов на репродуктивное здоровье является влияние повышенной экспозиции свинца на частоту фертилизации при наличии полиморфизма гена *CYP1A1rs4646903*.

9. Содержание органических соединений в организме также зависит от генетических особенностей системы детоксикации. Выявлены аллельные варианты, предрасполагающие к накоплению стирола в организме (делеция гена *GSM*, наличие аллеля G гена *NAT2rs179930*, наличие аллеля C гена *NAT2rs1801280*, наличие аллеля C гена *GSTP1rs1138272* и отсутствие аллеля C гена *SODrs4880*). Частота наличия в фолликулярной жидкости детектируемого уровня БФА была выше при отсутствии аллеля A гена *SULT1A1rs9282861*, а также погранично значимо выше при наличии аллеля C гена *SODrs4880* и отсутствии аллеля C гена *CYP1A1rs1799814*. Уровень БФА был погранично значимо выше у пациенток, имеющих аллель C гена *GSTP1rs1138272*, а также не имеющих аллеля G гена *GSTP1rs1695*. Патогенетическим механизмом воздействия органических соединений на репродукцию является влияние БФА в фолликулярной жидкости на уровень бластуляции при наличии полиморфизма гена *CYP1A1rs1799814* и влияние

стирола в крови на частоту живорождения при наличии полиморфизма гена *NAT2rs179930*.

10. Модификация образа жизни, способствующая снижению антропогенной химической нагрузки, в комплексе с назначением препаратов с антиоксидантным действием на этапе прегравидарной подготовки повышает эффективность программ ВРТ. У пациенток с высоким уровнем АХВ при сочетанном применении препаратов с антиоксидантным действием и модификации образа жизни частота наступления беременности составляет 26,8%, при отсутствии модификации образа жизни - 19,6%.

11. Назначение препаратов с антиоксидантным действием на этапе прегравидарной подготовки у пациенток с высоким уровнем АХВ увеличивает частоту наступления беременности в 1,6 раза, а частоту родов – в 1,8 раза. Для достижения 1 дополнительного случая наступления беременности препараты с антиоксидантным действием должны получить 9 пациенток.

12. Содержание витамина Д в организме пациенток с бесплодием имеет связь с генетическими особенностями рецептора витамина Д. У пациенток с отсутствием аллеля С гена *VDR* (*TaqI-rs731236*) риск дефицита витамина Д (20 нг/мл и менее) увеличивается в 2,5 раза, с отсутствием аллеля А гена *VDR* (*BsmI-rs1544410*) – в 2,8 раза.

13. Риск недостаточности витамина Д (<30 нг/мл) увеличивается при повышенном уровне органических АХВ. При уровне БФА $\geq 0,52$ нг/мл риск недостаточности витамина Д увеличивается в 1,78 раза, при уровне стирола $\geq 8,85$ нг/мл – в 1,5 раза.

Практические рекомендации

1. Рекомендовано проведение анкетирования пациенток, планирующих беременность, с целью определения факторов повышенной экспозиции АХВ.

2. Пациенткам, планирующим беременность и/или проведение цикла ВРТ, рекомендована модификация образа жизни:

- a. отказ от курения;
- b. ограничение потребления рыбы;
- c. ограничение потребления продуктов, упакованных в жестяные консервные банки;
- d. сокращение использования готовой еды (еда в упаковке из кафе/супермаркета);
- e. отказ от приготовления продуктов в пластиковой посуде в микроволновой печи;
- f. сокращение употребления напитков из пластиковых бутылок;
- g. отказ от использования в качестве основного источника питьевой воды бутилированной воды (оптимальным источником питьевой воды является вода, очищенная с помощью фильтров);
- h. оптимальный режим физической активности;
- i. ограничение использования наличных денежных средств, тщательное мытье рук после контакта с монетами/купюрами;
- j. нахождение не менее 1 часа в день на открытом воздухе.

3. Пациенткам, имеющих клинико-анамнестические предикторы экспозиции к АХВ, рекомендовано проводить дополнительное обследование на полиморфизм генов детоксикации: *GSTT1*, *GSTP1*rs1695, *GSM*, *CYP1A1*rs4646903, *NAT2*rs179930, *NAT2*rs1801280, *GSTP1*rs1138272, *SOD*rs4880, *SULT1A1*rs9282861, *CYP1A1*rs1799814.

4. При наличии «неблагоприятных» аллельных вариантов генов детоксикации (делеция гена *GSTT1*, делеция гена *GSM*, отсутствие аллеля G

гена *GSTP1*rs1695, наличие аллеля Т гена *CYP1A1*rs4646903, наличие аллеля G гена *NAT2*rs179930, наличие аллеля С гена *NAT2*rs1801280, наличие аллеля С гена *GSTP1*rs1138272 и отсутствие аллеля С гена *SOD*rs4880) рекомендовано определение уровня АХВ в организме пациенток.

5. Пациенткам, имеющим повышенный уровень АХВ в организме и/или «неблагоприятные» полиморфизмы генов детоксикации, рекомендовано назначение препаратов с антиоксидантным действием на прегравидарном этапе. Рекомендуемая схема терапии: коэнзим Q10 300 мг/сутки, эйкозапентаеновая кислота 300 мг/сутки, докозагексаеновая кислота 200 мг/сутки перорально, в течение 3 месяцев перед планированием беременности.

Алгоритм прегравидарной подготовки



Список сокращений

- а-ГнРГ – агонисты ГнРГ
ант-ГнРГ – антагонисты ГнРГ
АЛК - альфа-линоленовая кислота
АМГ – антимюллеров гормон
АТФ - аденозинтрифосфат
АФК – активные формы кислорода
АХВ – антропогенные химические вещества
БФА – бисфенол А
Е2 - эстрадиол
ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография масс-спектрометрия
ГнРГ - гонадотропин-рилизинг гормон
ГЭ – гиперплазия эндометрия
ДГК - докозагексаеновая кислота
ДДТ – дихлордифенилтрихлорэтан
ДИ – доверительный интервал
ИКСИ – интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит
ИМТ – индекс массы тела
ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
ЛГ – лютеинизирующий гормон
МЕ – международные единицы
МС – масс-спектрометрия
НГЭ – наружный генитальный эндометриоз
ОКК – ооцит-кумулюсные комплексы
ОР – относительный риск
ОШ – отношение шансов
ОШ_{кор} – скорректированное отношение шансов
ПАУ - полициклические ароматические углеводороды
ПАН - пероксиацетилнитриты
ПВП – перивителлиновое пространство ооцита
ПДК – предельно допустимые концентрации
ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты
ПРЛ – пролактин
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПЭ – перенос эмбриона в полость матки

РКИ – рандомизированное клиническое исследование
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
ТВП – трансвагинальная пункция яичников
ТТГ – тиреотропный гормон
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФЖ – фолликулярная жидкость
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
ЧМГ – человеческий менопаузальный гонадотропин
ЧНБ – частота наступления беременности
ЧПП – число пациентов, лечению подвергаемых
ЧПВП – число пациентов, вреду подвергаемых
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
ЭПК – эйкозапентаеновая кислота
AUC – area under curve
FDA – Food and Drug administration
b-ХГЧ – b-субъединица хорионического гонадотропина человека
LSIL - низкая степень плоскоклеточных интраэпителиальных поражений
NNT – number of people needed to treat
NNH – number of people needed to harm
PR – прогрессивно-подвижные сперматозоиды

Список литературы

1. Kristensen S.G., Humaidan P., Coetzee K. Mitochondria and reproduction: possibilities for testing and treatment. *Panminerva Med.* 2019; 61(1):82–96.
2. Budhwar S., Singh V., Verma P., Singh K. Fertilization failure and gamete health: Is there a link? *Front Biosci (Schol Ed).* 2017; 9:395–419.
3. Gallo A., Boni R., Tosti E. Gamete quality in a multistressor environment. *Environ Int.* 2020; 138:105627.
4. Canipari R., De Santis L., Cecconi S. Female Fertility and Environmental Pollution. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(23).
5. Salas-Huetos A., James E.R., Aston K.I., Jenkins T.G., Carrell D.T. Diet and sperm quality: Nutrients, foods and dietary patterns. *Reprod Biol.* 2019; 19(3):219–24.
6. Chianese R., Troisi J., Richards S., Scafuro M., Fasano S., Guida M., et al. Bisphenol A in Reproduction: Epigenetic Effects. *Curr Med Chem.* 2018; 25(6):748–70.
7. Kumar S., Sharma A. Cadmium toxicity: effects on human reproduction and fertility. *Rev Environ Health.* 2019; 34(4):327–38.
8. Bjørklund G., Chirumbolo S., Dadar M., Pivina L., Lindh U., Butnariu M., et al. Mercury exposure and its effects on fertility and pregnancy outcome. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019; 125(4):317–27.
9. Wu S., Wang M., Deng Y., Qiu J., Zhang X., Tan J. Associations of toxic and essential trace elements in serum, follicular fluid, and seminal plasma with In vitro fertilization outcomes. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2020; 204:110965.
10. Johns L.E., Ferguson K.K., Cantonwine D.E., McElrath T.F., Mukherjee B., Meeker J.D. Urinary BPA and Phthalate Metabolite Concentrations and Plasma Vitamin D Levels in Pregnant Women: A Repeated Measures Analysis. *Environ Health Perspect.* 2017; 125(8):87026.
11. Казанцева Е., Долгушина Н., Донникова А., Беднягин Л., Баранова Е., Терешков П. Влияние пренатальной экспозиции бенз(а)пирена, стирола

- и формальдегида на массу тела при рождении в зависимости от полиморфизмов генов системы детоксикации. *Акушерство и Гинекология*. 2016; 7:68–78.
12. Choi Y., Kim J., Hong Y. CYP1A1 genetic polymorphism and polycyclic aromatic hydrocarbons on pulmonary function in the elderly: haplotype-based approach for gene-environment interaction. *Toxicol Lett*. 2013; 221(3):185–90.
 13. Su H., Cao Y., Li J., Zhu Y., Ma X. GST null polymorphisms may affect the risk of coronary artery disease: evidence from a meta-analysis. *Thromb J*. 2020; 18:20.
 14. Piacentini S., Polimanti R., Moscatelli B., Re M., Fuciarelli R., Manfellotto D., et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and air pollution as interactive risk factors for asthma in a multicentre Italian field study: A preliminary study. *Ann Hum Biol*. 2010; 37(3):427–39.
 15. Showell M.G., Mackenzie-Proctor R., Jordan V., Hart R.J. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane database Syst Rev*. 2020; 8:CD007807.
 16. Crane-Godreau M.A., Clem K.J., Payne P., Fiering S. Vitamin D Deficiency and Air Pollution Exacerbate COVID-19 Through Suppression of Antiviral Peptide LL37. *Front public Heal*. 2020; 8:232.
 17. Barrea L., Savastano S., Di Somma C., Savanelli M.C., Nappi F., Albanese L., et al. Low serum vitamin D-status, air pollution and obesity: A dangerous liaison. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017; 18(2):207–14.
 18. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. Женское бесплодие. Клинические рекомендации. 2021; .
 19. Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012; 9(12):e1001356.
 20. РАРЧ. Регистр ВРТ Российской Ассоциации Репродукции Человека. 2018; .
 21. Mann U., Shiff B., Patel P. Reasons for worldwide decline in male fertility.

- Curr Opin Urol. 2020; 30(3):296–301.
22. Pizzol D., Foresta C., Garolla A., Demurtas J., Trott M., Bertoldo A., et al. Pollutants and sperm quality: a systematic review and meta-analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021; 28(4):4095–103.
 23. Global age-sex-specific fertility, mortality, healthy life expectancy (HALE), and population estimates in 204 countries and territories, 1950-2019: a comprehensive demographic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet (London, England).* 2020; 396(10258):1160–203.
 24. Vander Borgh M., Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem.* 2018; 62:2–10.
 25. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril.* 2014; 101(3):633–4.
 26. Mena G.P., Mielke G.I., Brown W.J. Do physical activity, sitting time and body mass index affect fertility over a 15-year period in women? Data from a large population-based cohort study. *Hum Reprod.* 2020; 35(3):676–83.
 27. Mena G.P., Mielke G.I., Brown W.J. The effect of physical activity on reproductive health outcomes in young women: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2019; 25(5):541–63.
 28. Gaskins A.J., Chavarro J.E. Diet and fertility: a review. *Am J Obstet Gynecol.* 2018; 218(4):379–89.
 29. Fontana R., Della Torre S. The Deep Correlation between Energy Metabolism and Reproduction: A View on the Effects of Nutrition for Women Fertility. *Nutrients.* 2016; 8(2):87.
 30. de Angelis C., Nardone A., Garifalos F., Pivonello C., Sansone A., Conforti A., et al. Smoke, alcohol and drug addiction and female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2020; 18(1):21.
 31. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Smoking and infertility: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2018; 110(4):611–8.

32. Chiang C., Mahalingam S., Flaws J.A. Environmental Contaminants Affecting Fertility and Somatic Health. *Semin Reprod Med.* 2017; 35(3):241–9.
33. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Obesity and overweight. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
34. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet (London, England).* 2017; 390(10113):2627–42.
35. Adela Hruby, PhD M., Frank B. Hu, MD, PhD M. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharmacoeconomics.* 2015; 33(7):673–89.
36. Fichman V., Costa R., Miglioli T.C., Marinheiro L. Association of obesity and anovulatory infertility. *Einstein (Sao Paulo).* 2020; 18:eAO5150.
37. Kim S., Park E., Kim H. Effectiveness of Non-Pharmacological Interventions for Overweight or Obese Infertile Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(20).
38. Jungheim E., Travieso J., Hopeman M. Weighing the impact of obesity on female reproductive function and fertility. *Nutr Rev.* 2013; 71 Suppl 1(01):S3-8.
39. Poston L., Caleyachetty R., Cnattingius S., Corvalán C., Uauy R., Herring S., et al. Preconceptional and maternal obesity: epidemiology and health consequences. *lancet Diabetes Endocrinol.* 2016; 4(12):1025–36.
40. Parretti S., Caroli A., Torlone E. Nutrition and Metabolic Adaptations in Physiological and Complicated Pregnancy: Focus on Obesity and Gestational Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11:611929.
41. Catalano P.M., Shankar K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. *BMJ.* 2017; 356:j1.
42. Phipps E., Prasanna D., Brima W., Jim B. Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Definitions, and Guidelines. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016;

- 11(6):1102–13.
43. Spradley F.T. Metabolic abnormalities and obesity’s impact on the risk for developing preeclampsia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2017; 312(1):R5–12.
 44. Olson K.N., Redman L.M., Sones J.L. Obesity “complements” preeclampsia. *Physiol Genomics*. 2019; 51(3):73–6.
 45. Stang J., Huffman L.G. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Obesity, Reproduction, and Pregnancy Outcomes. *J Acad Nutr Diet*. 2016; 116(4):677–91.
 46. American College of Obstetricians and Gynecologists’ Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. ACOG Practice Bulletin No. 203: Chronic Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2019; 133(1):e26–50.
 47. Riley L., Wertz M., McDowell I. Obesity in Pregnancy: Risks and Management. Vol. 97, *American family physician*. United States; 2018. p. 559–61.
 48. Boutari C., Pappas P.D., Mintziori G., Nigdelis M.P., Athanasiadis L., Goulis D.G., et al. The effect of underweight on female and male reproduction. *Metabolism*. 2020; 107:154229.
 49. Collins G.G., Rossi B. V. The impact of lifestyle modifications, diet, and vitamin supplementation on natural fertility. *Fertil Res Pract*. 2015; 1:11.
 50. Bellver J. Female underweight and risk of ectopic pregnancy. *BJOG*. 2021; 128(3):551.
 51. Cai J., Liu L., Jiang X., Li P., Sha A., Ren J. Low body mass index is associated with ectopic pregnancy following assisted reproductive techniques: a retrospective study. *BJOG*. 2021; 128(3):540–50.
 52. Oliver A., Overton C. Diagnosis and management of miscarriage. *Practitioner*. 2014; 258(1771):3,25-28.
 53. Rossi C. Underweight and pregnancy. *BJOG*. 2016; 123(12):2008.
 54. Oliva M., Nazem T.G., Lee J.A., Copperman A.B. Evaluating in vitro fertilization outcomes of patients with low body mass index following

- frozen-thawed embryo transfer. *Int J Gynaecol Obstet Off organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2021; 155(1):132–7.
55. Dhair A., Abed Y. The association of types, intensities and frequencies of physical activity with primary infertility among females in Gaza Strip, Palestine: A case-control study. *PLoS One.* 2020; 15(10):e0241043.
 56. Lee S., Min J., Kim H., Min K. Association Between the Frequency of Eating Non-home-prepared Meals and Women Infertility in the United States. *J Prev Med Public Health.* 2020; 53(2):73–81.
 57. Oboni J.-B., Marques-Vidal P., Bastardot F., Vollenweider P., Waeber G. Impact of smoking on fertility and age of menopause: a population-based assessment. *BMJ Open.* 2016; 6(11):e012015.
 58. Marom-Haham L., Shulman A. Cigarette smoking and hormones. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2016; 28(4):230–5.
 59. Lyngsø J., Kesmodel U.S., Bay B., Ingerslev H.J., Pisinger C.H., Ramlau-Hansen C.H. Female cigarette smoking and successful fertility treatment: A Danish cohort study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021; 100(1):58–66.
 60. Bae J., Park S., Kwon J.-W. Factors associated with menstrual cycle irregularity and menopause. *BMC Womens Health.* 2018; 18(1):36.
 61. Bijelic R., Milicevic S., Balaban J. Risk Factors for Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Med Arch (Sarajevo, Bosnia Herzegovina).* 2017; 71(1):25–8.
 62. Matikainen T.M., Moriyama T., Morita Y., Perez G.I., Korsmeyer S.J., Sherr D.H., et al. Ligand activation of the aromatic hydrocarbon receptor transcription factor drives Bax-dependent apoptosis in developing fetal ovarian germ cells. *Endocrinology.* 2002; 143(2):615–20.
 63. Radin R.G., Hatch E.E., Rothman K.J., Mikkelsen E.M., Sørensen H.T., Riis A.H., et al. Active and passive smoking and fecundability in Danish pregnancy planners. *Fertil Steril.* 2014; 102(1):183-191.e2.
 64. Firms S., Cruzat V.F., Keane K.N., Joesbury K.A., Lee A.H., Newsholme P., et al. The effect of cigarette smoking, alcohol consumption and fruit and

- vegetable consumption on IVF outcomes: a review and presentation of original data. *Reprod Biol Endocrinol.* 2015; 13:134.
65. Bashiri A., Halper K.I., Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018; 16(1):121.
 66. Heger A., Sator M., Walch K., Pietrowski D. Smoking Decreases Endometrial Thickness in IVF/ICSI Patients. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2018; 78(1):78–82.
 67. Sealock T., Sharma S. Smoking Cessation. In *Treasure Island (FL)*; 2021.
 68. Claire R., Chamberlain C., Davey M.-A., Cooper S.E., Berlin I., Leonardi-Bee J., et al. Pharmacological interventions for promoting smoking cessation during pregnancy. *Cochrane database Syst Rev.* 2020; 3(3):CD010078.
 69. Eggert J., Theobald H., Engfeldt P. Effects of alcohol consumption on female fertility during an 18-year period. *Fertil Steril.* 2004; 81(2):379–83.
 70. Mutsaerts M.A.Q., Groen H., Huiting H.G., Kuchenbecker W.K.H., Sauer P.J.J., Land J.A., et al. The influence of maternal and paternal factors on time to pregnancy--a Dutch population-based birth-cohort study: the GECKO Drenthe study. *Hum Reprod.* 2012; 27(2):583–93.
 71. Chavarro J.E., Rich-Edwards J.W., Rosner B.A., Willett W.C. Caffeinated and alcoholic beverage intake in relation to ovulatory disorder infertility. *Epidemiology.* 2009; 20(3):374–81.
 72. Tolstrup J.S., Kjaer S.K., Holst C., Sharif H., Munk C., Osler M., et al. Alcohol use as predictor for infertility in a representative population of Danish women. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003; 82(8):744–9.
 73. Kesmodel U., Wisborg K., Olsen S.F., Henriksen T.B., Secher N.J. Moderate alcohol intake during pregnancy and the risk of stillbirth and death in the first year of life. *Am J Epidemiol.* 2002; 155(4):305–12.
 74. Kesmodel U., Wisborg K., Olsen S.F., Henriksen T.B., Secher N.J. Moderate alcohol intake in pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *Alcohol Alcohol.* 2002; 37(1):87–92.

75. Rausgaard N.L.K., Ibsen I.O., Jørgensen J.S., Lamont R.F., Ravn P. Management and monitoring of opioid use in pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020; 99(1):7–15.
76. Newsome M. Critical Support Where High-Risk Pregnancy Meets Addiction. Vol. 40, *Health affairs (Project Hope)*. United States; 2021. p. 10–3.
77. Jukic A.M.Z., Weinberg C.R., Baird D.D., Wilcox A.J. Lifestyle and reproductive factors associated with follicular phase length. *J Womens Health (Larchmt)*. 2007; 16(9):1340–7.
78. Roncero C., Valriberas-Herrero I., Mezzatesta-Gava M., Villegas J.L., Aguilar L., Grau-López L. Cannabis use during pregnancy and its relationship with fetal developmental outcomes and psychiatric disorders. A systematic review. *Reprod Health.* 2020; 17(1):25.
79. Казанцева Е., Долгушина Н.В., Ильченко И.Н. Влияние антропогенных химических веществ на течение беременности. *Акушерство и гинекология.* 2013; 2:10–7.
80. Долгушина Н.В., Казанцева Е., Пивоварова Л.В. Влияние антропогенных химических веществ на массу тела новорожденных. *Акушерство и гинекология.* 2013; 12:58–64.
81. Всемирная организация здравоохранения. *Окружающая среда и социальные детерминанты здоровья.* 2017.
82. Чебышев Н.В., Филиппова А.В. *Основы экологии.* 2004. 335 р.
83. Миллер Т. *Жизнь в окружающей среде.* 1993.
84. Небел Б. *Наука об окружающей среде.* 1993.
85. Межгосударственный стандарт. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. 1976.
86. United States. *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act of 1980.* PubL. 1980; :96–510.
87. Washington D.C.: U.S. Environmental Protection Agency (EPA). *Superfund: National Priorities List.* 2019.

88. ATSDR. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html#2019spl>. 2019.
89. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 2 "Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 1.2.3685-21 "Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека.
90. Choi Y.-J., Lee Y.A., Hong Y.-C., Cho J., Lee K.-S., Shin C.H., et al. Effect of prenatal bisphenol A exposure on early childhood body mass index through epigenetic influence on the insulin-like growth factor 2 receptor (IGF2R) gene. *Environ Int.* 2020; 143:105929.
91. Martínez-Ibarra A., Martínez-Razo L.D., MacDonald-Ramos K., Morales-Pacheco M., Vázquez-Martínez E.R., López-López M., et al. Multisystemic alterations in humans induced by bisphenol A and phthalates: Experimental, epidemiological and clinical studies reveal the need to change health policies. *Environ Pollut.* 2021; 271:116380.
92. Amir S., Shah S.T.A., Mamoulakis C., Docea A.O., Kalantzi O.-I., Zachariou A., et al. Endocrine Disruptors Acting on Estrogen and Androgen Pathways Cause Reproductive Disorders through Multiple Mechanisms: A Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2021; 18(4).
93. Kahn L.G., Philippat C., Nakayama S.F., Slama R., Trasande L. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health. *lancet Diabetes Endocrinol.* 2020; 8(8):703–18.
94. Gore A., Crews D., Doan L. Introduction to EDCs A Guide for Public Interest Organizations and Policymakers. 2014.
95. Европейское Региональное бюро ВОЗ. Показатели на основе биомониторинга экспозиции к химическим загрязнителям : Отчет о совещании (Катанья, Италия, 19-20 апреля 2012 г.) http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0014/171221/e96640r.pdf. 2012. 43 p.
96. Rzymiski P., Niedzielski P., Klimaszuk P., Poniedziałek B. Bioaccumulation

- of selected metals in bivalves (Unionidae) and *Phragmites australis* inhabiting a municipal water reservoir. *Environ Monit Assess.* 2014; 186(5):3199–212.
97. Magnano G.C., Marussi G., Pavoni E., Adami G., Larese Filon F., Crosera M. Percutaneous metals absorption following exposure to road dust powder. *Environ Pollut.* 2022; 292(Pt B):118353.
 98. Hemmativaghef E. Exposure to lead, mercury, styrene, and toluene and hearing impairment: evaluation of dose-response relationships, regulations, and controls. *J Occup Environ Hyg.* 2020; 17(11–12):574–97.
 99. Samiee F., Vahidinia A., Taravati Javad M., Leili M. Exposure to heavy metals released to the environment through breastfeeding: A probabilistic risk estimation. *Sci Total Environ.* 2019; 650(Pt 2):3075–83.
 100. Dórea J.G. Environmental exposure to low-level lead (Pb) co-occurring with other neurotoxicants in early life and neurodevelopment of children. *Environ Res.* 2019; 177:108641.
 101. Nieboer E., Richardson D. The replacement of the nondescript term ‘heavy metals’ by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ Pollut.* 1980; 1:3–26.
 102. Hodgson E., Mailman R., Chambers J. *Macmillan Dictionary of Toxicology.* 1988.
 103. Heath L.M., Soole K.L., McLaughlin M.L., McEwan G.T.A., Edwards J.W. Toxicity of environmental lead and the influence of intestinal absorption in children. *Rev Environ Health.* 2003; 18(4):231–50.
 104. Vorvolakos T., Arseniou S., Samakouri M. There is no safe threshold for lead exposure: A literature review. *Psychiatrike.* 2016; 27(3):204–14.
 105. Федеральный закон от 22 марта 2003 г. N 34-ФЗ “О запрете производства и оборота этилированного автомобильного бензина в Российской Федерации.” 2003.
 106. Charkiewicz A.E., Backstrand J.R. Lead Toxicity and Pollution in Poland. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(12).

107. Consultation W.E. Available evidence for the future update of the WHO Global Air Quality Guidelines (AQGs). 2015.
108. Wani A.L., Ara A., Usmani J.A. Lead toxicity: a review. *Interdiscip Toxicol.* 2015; 8(2):55–64.
109. Aaseb U., Kjær K. Lead poisoning as possible cause of deaths at the Swedish House at Kapp Thordsen, Spitsbergen, winter 1872-3. *Bmj.* 2009; 339.
110. Rzymiski P., Rzymiski P., Tomczyk K., Niedzielski P., Jakubowski K., Poniedziałek B., et al. Metal status in human endometrium: relation to cigarette smoking and histological lesions. *Environ Res.* 2014; 132:328–33.
111. Authority E.F.S. Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA J.* 2014; 8(4):1570.
112. Spivey A. The weight of lead. Effects add up in adults. *Environ Health Perspect.* 2007; 115(1):A30-6.
113. Tanrikut E., Karaer A., Celik O., Celik E., Otlu B., Yilmaz E., et al. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* Role of endometrial concentrations of heavy metals (cadmium, lead, mercury and arsenic) in the aetiology of unexplained infertility. *Eur J Obs Gynecol Reprod Bio.* 2014; 179:187–90.
114. McComb J., Mills I.G., Muller M., Berntsen H.F., Zimmer K.E., Ropstad E., et al. Human blood-based exposure levels of persistent organic pollutant (POP) mixtures antagonise androgen receptor transactivation and translocation. *Environ Int.* 2019; 132:105083.
115. World Health Organization. Exposure to cadmium: a major public health concern. *Prev Dis Through Heal Environ.* 2010; :3–6.
116. [Http://www.pref.toyama.jp/](http://www.pref.toyama.jp/). Музей болезни Итай-Итай в префектуре Тоёма.
117. Caini S., Bendinelli B., Masala G., Saieva C., Lundh T., Kyrtopoulos S.A., et al. Predictors of erythrocyte cadmium levels in 454 adults in Florence, Italy. *Sci Total Environ.* 2018; 644:37–44.
118. Christensen P.S., Bonde J.P., Bungum L., Giwercman A., Toft G., Jönsson

- B.A.G., et al. Environmental cadmium and lead exposure and anti-Müllerian hormone in pregnant women. *Reprod Toxicol.* 2016; 61:114–9.
119. Pollack A.Z., Schisterman E.F., Goldman L.R., Mumford S.L., Albert P.S., Jones R.L., et al. Cadmium, lead, and mercury in relation to reproductive hormones and anovulation in premenopausal women. *Environ Health Perspect.* 2011; 119(8):1156–61.
120. Reynolds P., Canchola A.J., Duffy C.N., Hurley S., Neuhausen S.L., Horn-Ross P.L., et al. Urinary cadmium and timing of menarche and pubertal development in girls. *Environ Res.* 2020; 183:109224.
121. Tian L.-L., Zhao Y.-C., Wang X.-C., Gu J.-L., Sun Z.-J., Zhang Y.-L., et al. Effects of gestational cadmium exposure on pregnancy outcome and development in the offspring at age 4.5 years. *Biol Trace Elem Res.* 2009; 132(1–3):51–9.
122. Sukhn C., Awwad J., Ghantous A., Zaatari G. Associations of semen quality with non-essential heavy metals in blood and seminal fluid: data from the Environment and Male Infertility (EMI) study in Lebanon. *J Assist Reprod Genet.* 2018; 35(9):1691–701.
123. Bernard A. Confusion about Cadmium Risks: The Unrecognized Limitations of an Extrapolated Paradigm. *Environ Health Perspect.* 2016; 124(1):1–5.
124. Environmental Protection Agency. Basic Information about Mercury.
125. FDA. Dietary Guidelines for Americans 2020-2025.pdf. 2020.
126. United Nations Environment Programme. MINAMATA CONVENTION ON MERCURY. 2013.
127. Yorifuji T., Tsuda T., Kashima S., Takao S., Harada M. Long-term exposure to methylmercury and its effects on hypertension in Minamata. *Environ Res.* 2010; 110(1):40–6.
128. Ui J. A short history of Minamata disease research and the present situation of mercury pollution in Japan. *Nord Hyg Tidskr.* 1969; 50(2):139–46.
129. Lombardi G., Lanzirotti A., Qualls C., Socola F., Ali A.-M., Appenzeller O. Five hundred years of mercury exposure and adaptation. *J Biomed*

- Biotechnol. 2012; 2012:472858.
130. Rojas M., Seijas D., Agreda O., Rodríguez M. Biological monitoring of mercury exposure in individuals referred to a toxicological center in Venezuela. *Sci Total Environ.* 2006; 354(2–3):278–85.
 131. Esteban M., Schindler B.K., Jiménez J.A., Koch H.M., Angerer J., Rosado M., et al. Mercury analysis in hair: Comparability and quality assessment within the transnational COPHES/DEMOCOPHES project. *Environ Res.* 2015; 141:24–30.
 132. Li P., Guo S., Zhao J., Gao Y., Li Y.-F. Human Biological Monitoring of Mercury Through Hair Samples in China. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2019; 102(5):701–7.
 133. Zheng N., Wang S., Dong W., Hua X., Li Y., Song X., et al. The Toxicological Effects of Mercury Exposure in Marine Fish. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2019; 102(5):714–20.
 134. Aaseth J., Hilt B., Bjørklund G. Mercury exposure and health impacts in dental personnel. *Environ Res.* 2018; 164:65–9.
 135. Dudarev A., Odland J.O., Reiersen L.O. The Russian Arctic Mother-Child Cohort—The First Results of a Follow Up Study of Persistent Toxic Substances (PTS) Blood Levels. *Epidemiology.* 2009; 20(6).
 136. Hsi H.-C., Hsu Y.-W., Chang T.-C., Chien L.-C. Methylmercury Concentration in Fish and Risk-Benefit Assessment of Fish Intake among Pregnant versus Infertile Women in Taiwan. *PLoS One.* 2016; 11(5):e0155704.
 137. Yorifuji T., Takaoka S., Grandjean P. Accelerated functional losses in ageing congenital Minamata disease patients. *Neurotoxicol Teratol.* 2018; 69:49–53.
 138. Mínguez-Alarcón L., Afeiche M.C., Williams P.L., Arvizu M., Tanrikut C., Amarasiriwardena C.J., et al. Hair mercury (Hg) levels, fish consumption and semen parameters among men attending a fertility center. *Int J Hyg Environ Health.* 2018; 221(2):174–82.
 139. Henriques M.C., Loureiro S., Fardilha M., Herdeiro M.T. Exposure to

- mercury and human reproductive health: A systematic review. *Reprod Toxicol.* 2019; 85:93–103.
140. Rosemond Z., Chou S., Wilson J., Schwartz M., Tomei-Torres F., Ingerman L., et al. Toxicological Profile for Styrene [Internet]. U.S Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2010. 283 p.
141. Rosén I., Haeger-Aronsen B., Rehnström S., Welinder H. Neurophysiological observations after chronic styrene exposure. *Scand J Work Environ Health.* 1978; 4 Suppl 2:184–94.
142. Lorimer W. V, Lilis R., Fischbein A., Daum S., Anderson H., Wolff M.S., et al. Health status of styrene-polystyrene polymerization workers. *Scand J Work Environ Health.* 1978; 4 Suppl 2:220–6.
143. Leibman K.C. Metabolism and toxicity of styrene. *Environ Health Perspect.* 1975; 11:115–9.
144. Hemminki K., Franssila E., Vainio H. Spontaneous abortions among female chemical workers in Finland. *Int Arch Occup Environ Health.* 1980; 45(2):123–6.
145. Lindbohm M.L., Hemminki K., Kyyrönen P. Spontaneous abortions among women employed in the plastics industry. *Am J Ind Med.* 1985; 8(6):579–86.
146. Härkönen H., Holmberg P.C. Obstetric histories of women occupationally exposed to styrene. *Scand J Work Environ Health.* 1982; 8(1):74–7.
147. Naccarati A., Zanella A., Landi S., Consigli R., Migliore L. Sperm-FISH analysis and human monitoring: A study on workers occupationally exposed to styrene. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2003; 537(2):131–40.
148. Migliore L., Naccarati A., Zanella A., Scarpato R., Bramanti L., Mariani M. Assessment of sperm DNA integrity in workers exposed to styrene. *Hum Reprod.* 2002; 17(11):2912–8.
149. Poli D., Andreoli R., Moscato L., Pelà G., de Palma G., Cavallo D., et al. The Relationship Between Widespread Pollution Exposure and Oxidized Products of Nucleic Acids in Seminal Plasma and Urine in Males Attending

- a Fertility Center. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(6).
150. Geens T., Aerts D., Berthot C., Bourguignon J.-P., Goeyens L., Lecomte P., et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol an Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. 2012; 50(10):3725–40.
 151. Ma Y., Liu H., Wu J., Yuan L., Wang Y., Du X., et al. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ Res*. 2019; 176:108575.
 152. Onuzulu C.D., Rotimi O.A., Rotimi S.O. Epigenetic modifications associated with in utero exposure to endocrine disrupting chemicals BPA, DDT and Pb. *Rev Environ Health*. 2019; 34(4):309–25.
 153. Caserta D., Bordi G., Ciardo F., Marci R., La Rocca C., Tait S., et al. The influence of endocrine disruptors in a selected population of infertile women. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2013; 29(5):444–7.
 154. La Rocca C., Tait S., Guerranti C., Busani L., Ciardo F., Bergamasco B., et al. Exposure to endocrine disruptors and nuclear receptor gene expression in infertile and fertile women from different Italian areas. *Int J Environ Res Public Health*. 2014; 11(10):10146–64.
 155. Ehrlich S., Williams P.L., Missmer S.A., Flaws J.A., Berry K.F., Calafat A.M., et al. Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization. *Environ Health Perspect*. 2012; 120(7):978–83.
 156. Fujimoto V.Y., Kim D., vom Saal F.S., Lamb J.D., Taylor J.A., Bloom M.S. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2011; 95(5):1816–9.
 157. Braun J.M., Yolton K., Dietrich K.N., Hornung R., Ye X., Calafat A.M., et al. Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. *Environ Health Perspect*. 2009; 117(12):1945–52.
 158. Rochester J.R., Bolden A.L., Kwiatkowski C.F. Prenatal exposure to bisphenol A and hyperactivity in children: a systematic review and meta-

- analysis. *Environ Int.* 2018; 114:343–56.
159. Ejaredar M., Lee Y., Roberts D.J., Sauve R., Dewey D. Bisphenol A exposure and children's behavior: A systematic review. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2017; 27(2):175–83.
160. Sanders A.P., Saland J.M., Wright R.O., Satlin L. Perinatal and childhood exposure to environmental chemicals and blood pressure in children: a review of literature 2007-2017. *Pediatr Res.* 2018; 84(2):165–80.
161. BS EN 14372:2004. Child use and care articles. Cutlery and feeding utensils. Safety requirements and tests. 2004.
162. Canadian Environmental Protection Act. 1999.
163. Сокур С.А., Долгушина Н.В., Глинкина Ж.И., Горшкова А.Г, Калинина Е.А. Влияние уровня анеуплоидии хромосом в сперматозоидах на развитие анеуплоидии эмбрионов и исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий. *Гинекология.* 2013; 6:38–41.
164. Нерсеян Р.А. Руководство ВОЗ по стандартизованному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар. «МедПресс». Нерсеян РА, editor. Руководство ВОЗ по стандартизованному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар. М.: 1997; 10 — 91.
165. Zhang F., Li J., Liang Z., Wu J., Li L., Chen C., et al. Sperm DNA fragmentation and male fertility: a retrospective study of 5114 men attending a reproductive center. *J Assist Reprod Genet.* 2021; .
166. Lombó M., Herráez P. The effects of endocrine disruptors on the male germline: an intergenerational health risk. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2021; 96(4):1243–62.
167. Сыркашева А.Г., Долгушина Н.В., Макарова Н.П., Ковальская Е.В., Агаршева М.А. Исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с дисморфизмами ооцитов. *Акушерство и гинекология.* 2015; 7:56–62.
168. Brohi R.D., Wang L., Talpur H.S., Wu D., Khan F.A., Bhattarai D., et al. Toxicity of Nanoparticles on the Reproductive System in Animal Models: A

- Review. *Front Pharmacol.* 2017; 8:606.
169. Menezo Y.J., Russo G., Tosti E., El Mouatassim S., Benkhalifa M. Expression profile of genes coding for DNA repair in human oocytes using pangenomic microarrays, with a special focus on ROS linked decays. *J Assist Reprod Genet.* 2007; 24(11):513–20.
170. Казанцева Е., Долгушина Н.В., Донников А.Е., Беднягин Л.А., Баранова Е.Е., Терешков П.П. Влияние пренатальной экспозиции бенз(а)пирена, стирола и формальдегида на массу тела при рождении в зависимости от полиморфизмов генов системы детоксикации. *Акушерство и гинекология.* 2016; 7:68–78.
171. Danielson P.B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans. *Curr Drug Metab.* 2002; 3(6):561–97.
172. Chen Q., Zhang T., Wang J.-F., Wei D.-Q. Advances in human cytochrome p450 and personalized medicine. *Curr Drug Metab.* 2011; 12(5):436–44.
173. Ma Q., Lu A.Y.H. CYP1A induction and human risk assessment: an evolving tale of in vitro and in vivo studies. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35(7):1009–16.
174. James M.O., Sacco J.C., Faux L.R. Effects of Food Natural Products on the Biotransformation of PCBs. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2008; 25(2):211–7.
175. Bozina N., Bradamante V., Lovrić M. Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2009; 60(2):217–42.
176. Kodama S., Negishi M. Sulfotransferase genes: regulation by nuclear receptors in response to xeno/endo-biotics. *Drug Metab Rev.* 2013; 45(4):441–9.
177. Ung D., Nagar S. Variable sulfation of dietary polyphenols by recombinant human sulfotransferase (SULT) 1A1 genetic variants and SULT1E1. *Drug Metab Dispos.* 2007; 35(5):740–6.
178. Chatterjee A., Gupta S. The multifaceted role of glutathione S-transferases in cancer. *Cancer Lett.* 2018; 433:33–42.

179. Bowatte G., Lodge C.J., Perret J.L., Matheson M.C., Dharmage S.C. Interactions of GST Polymorphisms in Air Pollution Exposure and Respiratory Diseases and Allergies. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016; 16(12):85.
180. Broekman M.M.T.J., Bos C., Te Morsche R.H.M., Hoentjen F., Roelofs H.M.J., Peters W.H.M., et al. GST Theta null genotype is associated with an increased risk for ulcerative colitis: a case-control study and meta-analysis of GST Mu and GST Theta polymorphisms in inflammatory bowel disease. *J Hum Genet.* 2014; 59(10):575–80.
181. Du Y., Zhang H., Xu Y., Ding Y., Chen X., Mei Z., et al. Association among genetic polymorphisms of GSTP1, HO-1, and SOD-3 and chronic obstructive pulmonary disease susceptibility. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2019; 14:2081–8.
182. Nishikawa T., Yamaguchi H., Ikawa K., Nakayama K., Higashi E., Miyahara E., et al. Influence of GST polymorphisms on busulfan pharmacokinetics in Japanese children. *Pediatr Int.* 2019; 61(6):558–65.
183. Kurashova N.A., Dashiev B.G., Bairova T.A., Labygina A. V, Kolesnikova L.I. [Association of polymorphic markers of GSTP1 gene with oxidative stress parameters in infertility men]. *Urologiia.* 2020; (4):84–9.
184. Hekim N., Gure M.A., Metin Mahmutoglu A., Gunes S., Asci R., Henkel R. SNP's in xenobiotic metabolism and male infertility. *Xenobiotica.* 2020; 50(3):363–70.
185. Makarova S.I. Human N-acetyltransferases and drug-induced hepatotoxicity. *Curr Drug Metab.* 2008; 9(6):538–45.
186. Khatib A., Solaimuthu B., Ben Yosef M., Abu Rmaileh A., Tanna M., Oren G., et al. The glutathione peroxidase 8 (GPX8)/IL-6/STAT3 axis is essential in maintaining an aggressive breast cancer phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117(35):21420–31.
187. Su M.W., Tsai C.H., Tung K.Y., Hwang B.F., Liang P.H., Chiang B.L., et al. GSTP1 is a hub gene for gene-air pollution interactions on childhood asthma.

- Allergy Eur J Allergy Clin Immunol. 2013; 68(12):1614–7.
188. Lee Y., Lin Y., Lee Y., Wang J., Hsiue T., Guo Y. Glutathione S-transferase P1 gene polymorphism and air pollution as interactive risk factors for childhood asthma. *Clin Exp allergy*. 2004; 34(11):1707–13.
 189. Ściskalska M., Milnerowicz H. Activity of glutathione S-transferase and its π isoenzyme in the context of single nucleotide polymorphism in the GSTP1 gene (rs1695) and tobacco smoke exposure in the patients with acute pancreatitis and healthy subjects. *Biomed Pharmacother*. 2021; 140:111589.
 190. Huang L., Luo Y., Wen X., He Y., Ding P., Xie C., et al. Gene-gene-environment interactions of prenatal exposed to environmental tobacco smoke, CYP1A1 and GSTs polymorphisms on full-term low birth weight: relationship of maternal passive smoking, gene polymorphisms, and FT-LBW. *J Matern neonatal Med*. 2019; 32(13):2200–8.
 191. Landi M.T., Bergen A.W., Baccarelli A., Patterson D.G.J., Grassman J., Ter-Minassian M., et al. CYP1A1 and CYP1B1 genotypes, haplotypes, and TCDD-induced gene expression in subjects from Seveso, Italy. *Toxicology*. 2005; 207(2):191–202.
 192. Kim H.-J., Park J.-H., Seo Y.-S., Holsen T.M., Hopke P.K., Sung J., et al. CYP1A1 gene polymorphisms modify the association between PM(10) exposure and lung function. *Chemosphere*. 2018; 203:353–9.
 193. Kiruthiga P. V, Kannan M.R., Saraswathi C., Pandian S.K., Devi K.P. CYP1A1 gene polymorphisms: lack of association with breast cancer susceptibility in the southern region (Madurai) of India. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011; 12(8):2133–8.
 194. Showell M.G., Mackenzie-Proctor R., Jordan V., Hart R.J. Antioxidants for female subfertility. *Cochrane database Syst Rev*. 2017; 7(7):CD007807.
 195. Beygi Z., Forouhari S., Mahmoudi E., Hayat S.M.G., Nourimand F. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Supplementation in Male Fertility. *Curr Mol Med*. 2021; 21(4):265–82.
 196. Florou P., Anagnostis P., Theocharis P., Chourdakis M., Goulis D.G. Does

- coenzyme Q(10) supplementation improve fertility outcomes in women undergoing assisted reproductive technology procedures? A systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *J Assist Reprod Genet.* 2020; 37(10):2377–87.
197. Holman R.T. The slow discovery of the importance of omega 3 essential fatty acids in human health. *J Nutr.* 1998; 128(2 Suppl):427S-433S.
 198. Lee J.H., O’Keefe J.H., Lavie C.J., Marchioli R., Harris W.S. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin Proc.* 2008; 83(3):324–32.
 199. Chattipakorn N., Settakorn J., Petsophonsakul P., Suwannahoi P., Mahakranukrauh P., Srichairatanakool S., et al. Cardiac mortality is associated with low levels of omega-3 and omega-6 fatty acids in the heart of cadavers with a history of coronary heart disease. *Nutr Res.* 2009; 29(10):696–704.
 200. Harris W.S. Are omega-3 fatty acids the most important nutritional modulators of coronary heart disease risk? *Curr Atheroscler Rep.* 2004; 6(6):447–52.
 201. Falsig A.-M.L., Gleerup C.S., Knudsen U.B. The influence of omega-3 fatty acids on semen quality markers: a systematic PRISMA review. *Andrology.* 2019; 7(6):794–803.
 202. Safarinejad M.R., Hosseini S.Y., Dadkhah F., Asgari M.A. Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acids with semen characteristics, and anti-oxidant status of seminal plasma: a comparison between fertile and infertile men. *Clin Nutr.* 2010; 29(1):100–5.
 203. Behboudi-Gandevani S., Hariri F.-Z., Moghaddam-Banaem L. The effect of omega 3 fatty acid supplementation on premenstrual syndrome and health-related quality of life: a randomized clinical trial. *J Psychosom Obstet Gynaecol.* 2018; 39(4):266–72.
 204. Rahbar N., Asgharzadeh N., Ghorbani R. Effect of omega-3 fatty acids on intensity of primary dysmenorrhea. *Int J Gynaecol Obstet Off organ Int Fed Gynaecol Obstet.* 2012; 117(1):45–7.

205. Khanaki K., Nouri M., Ardekani A.M., Ghassemzadeh A., Sadeghi M.R., Darabi M., et al. Evaluation of the Relationship between Endometriosis and Omega-3 and Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Iran Biomed J.* 2012; 16(January):38–43.
206. Hansen S., Knudsen U. Endometriosis, dysmenorrhoea and diet. *Eur J Obs Gynecol Reprod Bio.* 2013; 169(2):162–71.
207. Missmer S.A., Chavarro J.E., Malspeis S., Bertone-johnson E.R., Hornstein M.D., Spiegelman D., et al. A prospective study of dietary fat consumption and endometriosis risk. *Hum Reprod.* 2010; 25(6):1528–35.
208. Phelan N., Connor A.O., Tun T.K., Correia N., Boran G., Roche H.M., et al. Hormonal and metabolic effects of polyunsaturated fatty acids in young women with polycystic ovary syndrome : results from a cross-sectional analysis and a randomized , placebo-controlled , crossover trial 1 – 4. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(3):652–62.
209. Mohammadi E., Rafraf M. Benefits of Omega-3 Fatty Acids Supplementation on Serum Paraoxonase 1 Activity and Lipids Ratios in Polycystic Ovary Syndrome. *Heal Promot Perspect.* 2012; 2(2):197–204.
210. Mohammadi E., Rafraf M., Farzadi L. Effects of omega – 3 fatty acids supplementation on serum adiponectin levels and some metabolic risk factors in women with polycystic ovary syndrome. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2012; 21(July):511–8.
211. Zaree M., Sc M., Shahnazi V., Sc M., Fayezi S., Ph D., et al. Expression Levels of PPAR γ and CYP-19 in Polycystic Ovarian Syndrome Primary Granulosa Cells : Influence of ω -3 Fatty Acid. *Int J Fertil Steril.* 2015; 9(2):197–204.
212. Mirabi P., Chaichi M.J., Esmailzadeh S., Gholam S., Jorsaraei A., Bijani A. The role of fatty acids on ICSI outcomes : a prospective cohort study. *Lipids Health Dis.* 2017; 16(18):1–9.
213. Hammiche F., Vujkovic M., Wijburg W., Vries J.H.M. De, Macklon N.S., Laven J.S.E., et al. Increased preconception omega-3 polyunsaturated fatty

- acid intake improves embryo morphology. *Fertil Seril.* 2011; 95(5):1820–3.
214. Jungheim E., Macones G., Odem R., Patterson B., Moley K. Elevated serum alpha-linolenic acid levels are associated with decreased chance of pregnancy after in vitro fertilization. *Fertil Seril.* 2012; 96(4):880–3.
215. Safarinejad M.R. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on semen profile and enzymatic anti-oxidant capacity of seminal plasma in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratospermia : a double-blind, placebo-controlled, randomised study. *Andrologia.* 2011; 43(1):38–47.
216. Yao D.F., Mills J.N. Male infertility : lifestyle factors and holistic, complementary, and alternative therapies. *Asian J Androl.* 2016; 18(3):410–8.
217. Gambone J.C., Morris M.A., Esposito K., Giugliano D., Ignarro L.J. Lifestyle and metabolic approaches to maximizing erectile and vascular health. *Int J Impot Res.* 2011; 24(2):61–8.
218. Sharma A., Fonarow G.C., Butler J., Ezekowitz J.A., Felker G.M. Coenzyme Q10 and Heart Failure: A State-of-the-Art Review. *Circ Heart Fail.* 2016; 9(4):e002639.
219. Chavoshi Nezhad N., Vahabzadeh Z., Allahveisie A., Rahmani K., Raoofi A., Rezaie M.J., et al. The Effect of L-Carnitine and Coenzyme Q10 on the Sperm Motility, DNA Fragmentation, Chromatin Structure and Oxygen Free Radicals During, before and after Freezing in Oligospermia Men. *Urol J.* 2021; 18(3):330–6.
220. Balercia G., Mancini A., Paggi F., Tiano L., Pontecorvi A., Boscaro M., et al. Coenzyme Q10 and male infertility. *J Endocrinol Invest.* 2009; 32(7):626–32.
221. Safarinejad M.R., Safarinejad S., Shafiei N., Safarinejad S. Effects of the Reduced Form of Coenzyme Q 10 (Ubiquinol) on Semen Parameters in Men with Idiopathic Infertility : a Double-Blind , Placebo Controlled , Randomized Study. *J Urol.* 2012; 188(2):526–31.

222. Lafuente R., González-comadrán M., Solà I., López G., Brassesco M. Coenzyme Q10 and male infertility: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2013; 30(9):1147–56.
223. Holick M.F. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017; 18(2):153–65.
224. McMullan C.J., Borgi L., Curhan G.C., Fisher N., Forman J.P. The effect of vitamin D on renin-angiotensin system activation and blood pressure: a randomized control trial. *J Hypertens.* 2017; 35(4):822–9.
225. Ghorbani Z., Togha M., Rafiee P., Ahmadi Z.S., Rasekh Magham R., Haghghi S., et al. Vitamin D in migraine headache: a comprehensive review on literature. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol.* 2019; 40(12):2459–77.
226. Bizzaro G., Antico A., Fortunato A., Bizzaro N. Vitamin D and Autoimmune Diseases: Is Vitamin D Receptor (VDR) Polymorphism the Culprit? *Isr Med Assoc J.* 2017; 19(7):438–43.
227. Avila E., Díaz L., Halhali A., Larrea F. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase, 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase and vitamin D receptor gene expression by 8-bromo cyclic AMP in cultured human syncytiotrophoblast cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004; 89–90(1–5):115–9.
228. Parikh G., Varadinova M., Suwandhi P., Araki T., Rosenwaks Z., Poretsky L., et al. Vitamin D regulates steroidogenesis and insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) production in human ovarian cells. *Horm Metab Res = Horm und Stoffwechselforsch = Horm Metab.* 2010; 42(10):754–7.
229. Menichini D., Facchinetti F. Effects of vitamin D supplementation in women with polycystic ovary syndrome: a review. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol.* 2020; 36(1):1–5.
230. Bahrami A., Avan A., Sadeghnia H.R., Esmaeili H., Tayefi M., Ghasemi F., et al. High dose vitamin D supplementation can improve menstrual problems,

- dysmenorrhea, and premenstrual syndrome in adolescents. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2018; 34(8):659–63.
231. Kalaitzopoulos D.R., Lempesis I.G., Athanasaki F., Schizas D., Samartzis E.P., Kolibianakis E.M., et al. Association between vitamin D and endometriosis: a systematic review. *Hormones (Athens)*. 2020; 19(2):109–21.
232. Boisen I.M., Bøllehuus Hansen L., Mortensen L.J., Lanske B., Juul A., Blomberg Jensen M. Possible influence of vitamin D on male reproduction. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017; 173:215–22.
233. Bezerra Espinola M.S., Bilotta G., Aragona C. Positive effect of a new supplementation of vitamin D(3) with myo-inositol, folic acid and melatonin on IVF outcomes: a prospective randomized and controlled pilot study. *Gynecol Endocrinol Off J Int Soc Gynecol Endocrinol*. 2021; 37(3):251–4.
234. Lv S.S., Wang J.Y., Wang X.Q., Wang Y., Xu Y. Serum vitamin D status and in vitro fertilization outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2016; 293(6):1339–45.
235. Zhao J., Liu S., Wang Y., Wang P., Qu D., Liu M., et al. Vitamin D improves in-vitro fertilization outcomes in infertile women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *Minerva Med*. 2019; 110(3):199–208.
236. Voulgaris N., Papanastasiou L., Piaditis G., Angelousi A., Kaltsas G., Mastorakos G., et al. Vitamin D and aspects of female fertility. *Hormones (Athens)*. 2017; 16(1):5–21.
237. Cozzolino M., Busnelli A., Pellegrini L., Riviello E., Vitagliano A. How vitamin D level influences in vitro fertilization outcomes: results of a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2020; 114(5):1014–25.
238. Franasiak J.M., Molinaro T.A., Dubell E.K., Scott K.L., Ruiz A.R., Forman E.J., et al. Vitamin D levels do not affect IVF outcomes following the transfer of euploid blastocysts. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 212(3):315.e1-6.
239. Rhodes J.M., Subramanian S., Laird E., Griffin G., Kenny R.A. Perspective:

- Vitamin D deficiency and COVID-19 severity - plausibly linked by latitude, ethnicity, impacts on cytokines, ACE2 and thrombosis. *J Intern Med.* 2021; 289(1):97–115.
240. Owens D.J., Allison R., Close G.L. Vitamin D and the Athlete: Current Perspectives and New Challenges. *Sports Med.* 2018; 48(Suppl 1):3–16.
241. Дедов И., Мельниченко Г., Рожинская Л., Пигарова Е., Белая Ж., Дзеранова Л., et al. Клинические рекомендации. Дефицит витамина D: диагностика, лечение и профилактика. Российская ассоциация эндокринологов 2014 г. 1–77.
242. Cashman K.D., Dowling K.G., Škrabáková Z., Gonzalez-Gross M., Valtueña J., De Henauw S., et al. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr.* 2016; 103(4):1033–44.
243. Hosseinpanah F., Pour S.H., Heibatollahi M., Moghbel N., Asefzade S., Azizi F. The effects of air pollution on vitamin D status in healthy women: a cross sectional study. *BMC Public Health.* 2010; 10:519.
244. Nonaka T., Takakuwa K., Tanaka K. Analysis of the polymorphisms of genes coding biotransformation enzymes in recurrent miscarriage in the Japanese population. *J Obstet Gynaecol Res.* 2011; 37(10):1352–8.
245. Gaskins A.J., Fong K.C., Abu Awad Y., Di Q., Mínguez-Alarcón L., Chavarro J.E., et al. Time-Varying Exposure to Air Pollution and Outcomes of in Vitro Fertilization among Couples from a Fertility Clinic. *Environ Health Perspect.* 2019; 127(7):77002.
246. Xu Y., Nisenblat V., Lu C., Li R., Qiao J., Zhen X., et al. Pretreatment with coenzyme Q10 improves ovarian response and embryo quality in low-prognosis young women with decreased ovarian reserve: a randomized controlled trial. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018; 16(1):29.
247. Министерство Здравоохранения Российской Федерации. Приказ Минздрава России №107н от 30 Августа 2012 г. “О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению”. Доступно по:

- <https://www.rosminzdrav.ru/documents/6787-Prikaz-Minzdrava-Rossii-107n->
248. Петросян Я.А., Сыркашева А.Г., Романов А.Ю., Макарова Н.П., Калинина Е.А. Дифференцированный подход к ведению эмбриологического этапа у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий с переносом размороженного эмбриона. *Акушерство и гинекология*. 2020; 11:107–13.
 249. Zhang Y., Guo Z., Peng C., Deng H., Xiao X. A questionnaire based probabilistic risk assessment (PRA) of heavy metals in urban and suburban soils under different land uses and receptor populations. *Sci Total Environ*. 2021; 793:148525.
 250. Chen L., Luo K., Etzel R., Zhang X., Tian Y., Zhang J. Co-exposure to environmental endocrine disruptors in the US population. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019; 26(8):7665–76.
 251. Pacyga D.C., Sathyanarayana S., Strakovsky R.S. Dietary Predictors of Phthalate and Bisphenol Exposures in Pregnant Women. *Adv Nutr*. 2019; 10(5):803–15.
 252. Rouillon S., El Ouazzani H., Hardouin J.-B., Enjalbert L., Rabouan S., Migeot V., et al. How to Educate Pregnant Women about Endocrine Disruptors? *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(6).
 253. Karatela S., Coomarasamy C., Paterson J., Ward N.I. Household Smoking Status and Heavy Metal Concentrations in Toenails of Children. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(20).
 254. Ahmed A.S., Aldubayan M.A., Ahmed H.A., Refaat A.M., Alsalloumi A.S., Almasuood R.A., et al. Impact of smoking on heavy metal contamination and DNA fragmentation. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021; 28(11):13931–41.
 255. ООО «Российское общество акушеров-гинекологов» (РОАГ), ООО «Российская ассоциация репродукции человека» (РАРЧ). Клинические рекомендации. Женское бесплодие. 2021; .
 256. Tesi G.O., Iniaghe P.O. Polychlorinated biphenyls in canned sardines in

- Nigeria and health risk assessment. *Food Addit Contam Part B, Surveill.* 2020; 13(3):200–6.
257. Hartle J.C., Navas-Acien A., Lawrence R.S. The consumption of canned food and beverages and urinary Bisphenol A concentrations in NHANES 2003-2008. *Environ Res.* 2016; 150:375–82.
258. Pappalardo A.M., Copat C., Ferrito V., Grasso A., Ferrante M. Heavy metal content and molecular species identification in canned tuna: Insights into human food safety. *Mol Med Rep.* 2017; 15(5):3430–7.
259. Grieger J.A., Grzeskowiak L.E., Bianco-Miotto T., Jankovic-Karasoulos T., Moran L.J., Wilson R.L., et al. Pre-pregnancy fast food and fruit intake is associated with time to pregnancy. *Hum Reprod.* 2018; 33(6):1063–70.
260. Ehlert K.A., Beumer C.W.E., Groot M.C.E. Migration of bisphenol A into water from polycarbonate baby bottles during microwave heating. *Food Addit Contam Part A, Chem Anal Control Expo risk Assess.* 2008; 25(7):904–10.
261. Kubwabo C., Kosarac I., Stewart B., Gauthier B.R., Lalonde K., Lalonde P.J. Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Addit Contam Part A, Chem Anal Control Expo risk Assess.* 2009; 26(6):928–37.
262. Jeddi M.Z., Rastkari N., Ahmadkhaniha R., Yunesian M. Endocrine disruptor phthalates in bottled water: daily exposure and health risk assessment in pregnant and lactating women. *Environ Monit Assess.* 2016; 188(9):534.
263. Luo Q., Liu Z.-H., Yin H., Dang Z., Wu P.-X., Zhu N.-W., et al. Migration and potential risk of trace phthalates in bottled water: A global situation. *Water Res.* 2018; 147:362–72.
264. Jennings B., Duncan L.L. Water Safety and Lead Regulation: Physicians' Community Health Responsibilities. *AMA J ethics.* 2017; 19(10):1027–35.
265. Roy S., Tang M., Edwards M.A. Lead release to potable water during the Flint, Michigan water crisis as revealed by routine biosolids monitoring data. *Water Res.* 2019; 160:475–83.

266. Buckley J.P., Kim H., Wong E., Rebholz C.M. Ultra-processed food consumption and exposure to phthalates and bisphenols in the US National Health and Nutrition Examination Survey, 2013-2014. *Environ Int.* 2019; 131:105057.
267. Chen Z., Herting M.M., Chatzi L., Belcher B.R., Alderete T.L., McConnell R., et al. Regional and traffic-related air pollutants are associated with higher consumption of fast food and trans fat among adolescents. *Am J Clin Nutr.* 2019; 109(1):99–108.
268. Cunningham G.B., Wicker P., McCullough B.P. Pollution, Health, and the Moderating Role of Physical Activity Opportunities. *Int J Environ Res Public Health.* 2020; 17(17).
269. Tainio M., Jovanovic Andersen Z., Nieuwenhuijsen M.J., Hu L., de Nazelle A., An R., et al. Air pollution, physical activity and health: A mapping review of the evidence. *Environ Int.* 2021; 147:105954.
270. Dong J., Zhang S., Xia L., Yu Y., Hu S., Sun J., et al. Physical Activity, a Critical Exposure Factor of Environmental Pollution in Children and Adolescents Health Risk Assessment. *Int J Environ Res Public Health.* 2018; 15(2).
271. Böhlandt A., Schierl R., Diemer J., Koch C., Bolte G., Kiranoglu M., et al. High concentrations of cadmium, cerium and lanthanum in indoor air due to environmental tobacco smoke. *Sci Total Environ.* 2012; 414:738–41.
272. Komarnicki G.J.K. Lead and cadmium in indoor air and the urban environment. *Environ Pollut.* 2005; 136(1):47–61.
273. Shupler M., Hystad P., Birch A., Miller-Lionberg D., Jeronimo M., Arku R.E., et al. Household and personal air pollution exposure measurements from 120 communities in eight countries: results from the PURE-AIR study. *Lancet Planet Heal.* 2020; 4(10):e451–62.
274. de Bont J., Casas M., Barrera-Gómez J., Cirach M., Rivas I., Valvi D., et al. Ambient air pollution and overweight and obesity in school-aged children in Barcelona, Spain. *Environ Int.* 2019; 125:58–64.

275. Nicolaidis S. Environment and obesity. *Metabolism*. 2019; 100S:153942.
276. Xia B., Zhu Q., Zhao Y., Ge W., Zhao Y., Song Q., et al. Phthalate exposure and childhood overweight and obesity: Urinary metabolomic evidence. *Environ Int*. 2018; 121(Pt 1):159–68.
277. Murrison L.B., Brandt E.B., Myers J.B., Hershey G.K.K. Environmental exposures and mechanisms in allergy and asthma development. *J Clin Invest*. 2019; 129(4):1504–15.
278. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017; 35(5):494–510.
279. Liao B.-Q., Liu C.-B., Xie S.-J., Liu Y., Deng Y.-B., He S.-W., et al. Effects of fine particulate matter (PM(2.5)) on ovarian function and embryo quality in mice. *Environ Int*. 2020; 135:105338.
280. Hornstein M.D. Lifestyle and IVF Outcomes. *Reprod Sci*. 2016; 23(12):1626–9.
281. Rattan S., Zhou C., Chiang C., Mahalingam S., Brehm E., Flaws J.A. Exposure to endocrine disruptors during adulthood: consequences for female fertility. *J Endocrinol*. 2017; 233(3):R109–29.
282. Ren X., Zhang T., Chen X., Wei X., Tian Y., Li G., et al. Early-life exposure to bisphenol A and reproductive-related outcomes in rodent models: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY)*. 2020; 12(18):18099–126.
283. Poormoosavi S.M., Ph D., Behmanesh M.A., Ph D. Level of Bisphenol A in Follicular Fluid and Serum and Oocyte Morphology in Patients Undergoing IVF Treatment. 2019; 13(3):154–9.
284. Rodosthenous R.S., Baccarelli A.A., Mansour A., Adir M., Israel A., Racowsky C., et al. Supraphysiological Concentrations of Bisphenol A Alter the Expression of Extracellular Vesicle-Enriched miRNAs From Human Primary Granulosa Cells. *Toxicol Sci*. 2019; 169(1):5–13.
285. Mansur A., Adir M., Racowsky C., Combelles C.M., Landa N., Machtinger

- R. Susceptibility of human cumulus cells to bisphenol a In vitro. *Reprod Toxicol.* 2017; 74:189–94.
286. Snoj Tratnik J., Kosjek T., Heath E., Mazej D., Čehić S., Karakitsios S.P., et al. Urinary bisphenol A in children, mothers and fathers from Slovenia: Overall results and determinants of exposure. *Environ Res.* 2019; 168:32–40.
287. Castellini C., Totaro M., Parisi A., D’Andrea S., Lucente L., Cordeschi G., et al. Bisphenol A and Male Fertility: Myths and Realities. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020; 11:353.
288. Sharma A., Mollier J., Brocklesby R.W.K., Caves C., Jayasena C.N., Minhas S. Endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. 2020; (December 2019):243–53.
289. Dodge L.E., Williams P.L., Williams M.A., Missmer S.A., Toth T.L., Calafat A.M., et al. Paternal Urinary Concentrations of Parabens and Other Phenols in Relation to Reproductive Outcomes among Couples from a Fertility Clinic. *Environ Health Perspect.* 2015; 123(7):665–71.
290. Hussein A.G., Pasha H.F., El-Shahat H.M., Gad D.M., Toam M.M. CYP1A1 gene polymorphisms and smoking status as modifier factors for lung cancer risk. *Gene.* 2014; 541(1):26–30.
291. Hidaka A., Sasazuki S., Matsuo K., Ito H., Charvat H., Sawada N., et al. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and gastric cancer risk among Japanese: A nested case-control study within a large-scale population-based prospective study. *Int J cancer.* 2016; 139(4):759–68.
292. Wongpratate M., Ishida W., Phuthong S., Natphopsuk S., Ishida T. Genetic Polymorphisms of the Human Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) and Cervical Cancer Susceptibility among Northeast Thai Women. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2020; 21(1):243–8.
293. Michałowicz J. Bisphenol A--sources, toxicity and biotransformation. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014; 37(2):738–58.
294. Kim K.Y., Lee E., Kim Y. The Association between Bisphenol A Exposure

- and Obesity in Children-A Systematic Review with Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2019; 16(14).
295. Stojanoska M.M., Milosevic N., Milic N., Abenavoli L. The influence of phthalates and bisphenol A on the obesity development and glucose metabolism disorders. *Endocrine*. 2017; 55(3):666–81.
296. Menale C., Piccolo M.T., Cirillo G., Calogero R.A., Papparella A., Mita L., et al. Bisphenol A effects on gene expression in adipocytes from children: association with metabolic disorders. *J Mol Endocrinol*. 2015; 54(3):289–303.
297. Shmarakov I.O., Borschovetska V.L., Blaner W.S. Hepatic Detoxification of Bisphenol A is Retinoid-Dependent. *Toxicol Sci*. 2017; 157(1):141–55.
298. Lee Y.M., Hong Y.-C., Ha M., Kim Y., Park H., Kim H.S., et al. Prenatal Bisphenol-A exposure affects fetal length growth by maternal glutathione transferase polymorphisms, and neonatal exposure affects child volume growth by sex: From multiregional prospective birth cohort MOCEH study. *Sci Total Environ*. 2018; 612:1433–41.
299. Liu X., Wang Z., Liu F. Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*. 2021; 262:127880.
300. Wisniewski P., Romano R.M., Kizys M.M.L., Oliveira K.C., Kasamatsu T., Giannocco G., et al. Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Toxicology*. 2015; 329:1–9.
301. Chioccarelli T., Manfredola F., Migliaccio M., Altucci L., Porreca V., Fasano S., et al. Fetal-Perinatal Exposure to Bisphenol-A Affects Quality of Spermatozoa in Adulthood Mouse. *Int J Endocrinol*. 2020; 2020:2750501.
302. Campen K.A., Kucharczyk K.M., Bogin B., Ehrlich J.M., Combelles C.M.H. Spindle abnormalities and chromosome misalignment in bovine oocytes after exposure to low doses of bisphenol A or bisphenol S. *Hum Reprod*. 2018; 33(5):895–904.

303. Moore-Ambriz T.R., Acuña-Hernández D.G., Ramos-Robles B., Sánchez-Gutiérrez M., Santacruz-Márquez R., Sierra-Santoyo A., et al. Exposure to bisphenol A in young adult mice does not alter ovulation but does alter the fertilization ability of oocytes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015; 289(3):507–14.
304. Duffus J.H. “Heavy metals” a meaningless term? (IUPAC Technical Report). *Pure Appl Chem.* 74(5):793–807.
305. Omran G.A., Gaber H.D., Mostafa N.A.M., Abdel-Gaber R.M., Salah E.A. Potential hazards of bisphenol A exposure to semen quality and sperm DNA integrity among infertile men. *Reprod Toxicol.* 2018; 81:188–95.
306. Vitku J., Heracek J., Sosvorova L., Hampl R., Chlupacova T., Hill M., et al. Associations of bisphenol A and polychlorinated biphenyls with spermatogenesis and steroidogenesis in two biological fluids from men attending an infertility clinic. *Environ Int.* 2016; 89–90:166–73.
307. Krieg S.A., Shahine L.K., Lathi R.B. Environmental exposure to endocrine-disrupting chemicals and miscarriage. *Fertil Steril.* 2016; 106(4):941–7.
308. Li Q., Davila J., Bagchi M.K., Bagchi I.C. Chronic exposure to bisphenol a impairs progesterone receptor-mediated signaling in the uterus during early pregnancy. *Recept Clin Investig.* 2016; 3(3).
309. Zbucka-Kretowska M., Zbucki R., Parfieniuk E., Maslyk M., Lazarek U., Milyk W., et al. Evaluation of Bisphenol A influence on endocannabinoid system in pregnant women. *Chemosphere.* 2018; 203:387–92.
310. Liang F., Huo X., Wang W., Li Y., Zhang J., Feng Y., et al. Association of bisphenol A or bisphenol S exposure with oxidative stress and immune disturbance among unexplained recurrent spontaneous abortion women. *Chemosphere.* 2020; 257:127035.
311. Lass A., Belluzzi A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and IVF treatment. *Reprod Biomed Online.* 2019; 38(1):95–9.
312. Zarezadeh R., Mehdizadeh A., Leroy J.L.M.R., Nouri M., Fayezi S., Darabi M. Action mechanisms of n-3 polyunsaturated fatty acids on the oocyte

- maturation and developmental competence: Potential advantages and disadvantages. *J Cell Physiol.* 2019; 234(2):1016–29.
313. Kermack A.J., Lowen P., Wellstead S.J., Fisk H.L., Montag M., Cheong Y., et al. Effect of a 6-week “Mediterranean” dietary intervention on in vitro human embryo development: the Preconception Dietary Supplements in Assisted Reproduction double-blinded randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2020; 113(2):260–9.
314. Mitchell D., Henao M., Finkelstein J., Burnett-Bowie S.-A. Prevalence and Predictors of Vitamin D Deficiency in Healthy Adults. *Endocr Pract.* 2012; 18(6):914–23.
315. Norman A.W. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008; 88(2):491S-499S.
316. Peng Z., Xueb G., Chen W., Xia S. Environmental inhibitors of the expression of cytochrome P450 17A1 in mammals. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2019; 69:16–25.
317. Ronis M.J., Watt J., Pulliam C.F., Williams A.E., Alund A.W., Haque E., et al. Skeletal toxicity resulting from exposure of growing male rats to coplanar PCB 126 is associated with disruption of calcium homeostasis and the GH-IGF-1 axis and direct effects on bone formation. *Arch Toxicol.* 2020; 94(2):389–99.

Приложение

Часть 1.

Для оценки влияния образа жизни и питания на уровень АХВ в организме пациенток было произведено анкетирование пациенток.

Влияние образа жизни на репродуктивное здоровье.

Данная анкета содержит вопросы о вашем текущем образе жизни и привычках. Пожалуйста, выберите в каждом вопросе 1 ответ, который наиболее хорошо вам подходит. Постарайтесь не пропускать вопросы.

1. **Как вы можете оценить общее состояние своего здоровья?**
 - Очень хорошее
 - Хорошее
 - Удовлетворительное
 - Плохое
 - Очень плохое
2. **Как вы относитесь к курению?**
 - Я никогда не курила
 - Я курила раньше, но сейчас не курю
 - Я курю в настоящее время
3. **Как часто вы употребляете алкоголь?**
 - Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
4. **Как часто вы употребляете в пищу рыбу?**
 - Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
5. **Как часто вы употребляете продукты из консервных банок (жестяных банок)?**
 - Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
6. **Как часто вы употребляете готовую еду (еда в упаковке из кафе/супермаркета)?**
 - Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
7. **Как часто вам приходится разогревать еду в пластиковой упаковке в микроволновой печи?**
 - Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю

- 3 раза в неделю и чаще
- 8. Как часто вы употребляете напитки (соки, газировка, минеральная вода с газом/без газа) в пластиковых бутылках?**
- Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
- 9. Как часто вы употребляете фаст-фуд (еда из ресторанов быстрого питания)?**
- Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
- 10. Опишите основной источник питьевой воды для вас:**
- Водопроводная вода
 - Фильтрованная вода
 - Бутилированная вода
- 11. Как вы можете описать свою физическую активность?**
- У меня сидячая работа. Я не занимаюсь спортом.
 - Я занимаюсь спортом 1-2 раза в неделю
 - Активная работа. Регулярно занимаюсь спортом
- 12. В каком году построен дом, в котором вы проживаете?**
- 1990 год или позже
 - 1969-1989 гг
 - до 1969 года
- 13. На каком этаже вы живете?**
- 1-4 этаж
 - 5-9 этаж
 - 10 этаж и выше
- 14. Опишите свои условия постоянного проживания**
- Живу в городе
 - Живу за пределами города (деревня или загородный дом)
 - Половину времени провожу в городе, половину за городом
- 15. Как часто вы используете наличные деньги (купюры/монеты)?**
- Реже 1 раза в месяц
 - 1-2 раза в месяц
 - 1-2 раза в неделю
 - 3 раза в неделю и чаще
- 16. Опишите основные условия вашей работы (выберите наиболее близкий вам вариант)**
- Закрытое помещение, небольшой кабинет
 - Закрытое помещение, опен-спейс (открытое рабочее пространство)
 - Работаю на открытом воздухе
 - Работаю дома
- 17. Сколько времени вы проводите на свежем воздухе ежедневно?**
- Менее 1 часа
 - 1-3 часа
 - 4-7 часов
 - 8 часов и более

Результаты анкетирования пациенток.

Среди опрошенных 300 пациенток 29 человек (9,0%) оценили **свое здоровье** как Очень хорошее, 225 человек (69,9%) как Хорошее, 45 человек (14,0%) как Удовлетворительное и 1 человек (0,3%) как Плохое.

152 пациентки (47,2%) ответили, что никогда не курили, 130 пациенток (40,4%) являлись экс-курильщицами, и 18 пациенток (5,6%) курили на момент опроса.

126 пациенток (39,1%) **употребляли алкоголь** реже 1 раза в месяц, 159 пациенток (49,4%) – от 1 до 2 раз в месяц, 14 пациенток (4,3%) – от 1 до 2 раз в неделю, и 1 пациенток (0,3%) – 3 раза в неделю и чаще.

137 пациенток (42,5%) **употребляли в пищу рыбу** реже 1 раза в месяц, 104 пациентки (32,3%) – от 1 до 2 раз в месяц, 48 пациенток (14,9%) – от 1 до 2 раз в неделю, 11 пациенток (3,4%) – 3 раза в неделю и чаще.

При оценке частоты использования **консервированных продуктов** отмечено, что 130 пациенток (40,4%) употребляют консервы реже 1 раза в месяц, 104 пациентки (32,3%) – от 1 до 2 раз в месяц, 48 пациенток (14,9%) – от 1 до 2 раз в неделю, 11 пациенток (3,4%) – 3 раза в неделю и чаще.

130 пациенток (40,4%) **используют готовую еду** реже 1 раза в месяц, 82 пациентки (25,5%) – от 1 до 2 раз в месяц, 49 пациенток (15,2%) – от 1 до 2 раз в неделю, 39 пациенток (12,1%) – 3 раза в неделю и чаще.

147 пациенток (45,7%) **разогревают еду в пластиковой упаковке в микроволновой печи** реже 1 раза в месяц, 56 пациенток (17,4%) – 1-2 раза в месяц, 47 пациенток (14,6%) – 1-2 раза в неделю, 50 (15,5%) – 3 раза в неделю и чаще.

103 пациентки (32,0%) **употребляют напитки из пластиковых бутылок** реже 1 раза в месяц, 97 пациенток (30,1%) – от 1 до 2 раз в месяц, 59 пациенток (18,3%) – от 1 до 2 раз в неделю, 41 пациентка (12,7%) – 3 раза в неделю и чаще.

136 пациенток (42,2%) **употребляют фаст-фуд** реже 1 раза в месяц, 123 пациентки (38,2%) – от 1 до 2 раз в месяц, 37 пациенток (11,5%) – от 1 до 2 раз в неделю, 4 пациентки (1,2%) – 3 раза в неделю и чаще.

92 пациентки (28,6%) отметили в качестве **основного источника питьевой воды** водопроводную воду, 126 пациенток (39,1%) – фильтрованную воду, 82 пациентки (25,5%) – бутилированную воду.

142 пациентки (44,1%) охарактеризовали свою **физическую активность** как низкую, 131 пациентка (40,7%) – как среднюю, 27 пациенток (8,4%) – как высокую.

129 пациенток (40,1%) ответили, что их **дом был построен** после 1990 года, 156 пациенток (48,4%) – в период между 1969 и 1989 гг, 27 пациенток (8,4%) – до 1969 года.

141 пациентка (43,8%) живет с 1 по 4 этажи, 96 пациенток (29,8%) – с 5 по 9 этажи, 63 пациентки (19,6%) – выше 10 этажа.

203 пациентки (63,0%) ответили, что постоянно проживают в городе, 21 пациентки (6,5%) – в загородном доме, 76 пациенток (23,6%) – периодически в городе, периодически в загородном доме.

59 пациенток (18,3%) используют наличные деньги реже 1 раза в месяц, 139 пациенток (43,2%) – 1-2 раза в месяц, 53 пациентки (16,5%) – 1-2 раза в неделю, 49 пациенток (15,2%) – 3 раза в неделю и чаще.

124 пациентки (38,5%) в качестве основных условий работы отметили небольшой кабинет, 66 пациенток (20,5%) – открытое пространство, 3 пациентки (0,9%) работают на открытом воздухе, 197 пациенток (33,2%) работают дома.

83 пациентки (25,8%) отметили, что проводят на свежем воздухе менее 1 часа в день, 196 пациенток (60,9%) – от 1 до 3 часов, 20 пациенток (6,2%) – от 4 до 7 часов, 1 пациентка (0,3%) – более 8 часов.

Далее проведена оценка связи между данными анкетирования и уровнем АХВ (высокий/низкий).

Таблица 1

Состояние здоровья пациенток

Состояние здоровья	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Очень хорошее	4 (3,7%)	25 (13,1%)	0,28 (0,10; 0,78)
Хорошее	88 (80,7%)	137 (71,7%)	1,13 (0,99; 1,28)
Удовлетворительное	17 (15,6%)	28 (14,7%)	1,06 (0,61; 1,85)
Плохое	0	1 (0,5%)	-

Пациентки с высоким уровнем АХВ реже оценивали состояние своего здоровья как «Очень хорошее»), ОР 0,28 (0,10; 0,78).

Таблица 2

Анамнез курения

Курение	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Никогда не курили	33 (30,3%)	119 (62,3%)	0,49 (0,36; 0,66)
Экс-курильщик	62 (56,9%)	68 (35,6%)	1,60 (1,24; 2,05%)
Курит в момент исследования	14 (12,8%)	4 (2,1%)	11,13 (2,62; 47,29)

Отмечена статистически значимая связь между курением (в том числе и с курением в анамнезе) и уровнем АХВ. В группе с высоким уровнем АХВ только 30,3% пациенток никогда не курили, по сравнению с 62,3% в группе с низким уровнем АХВ. Пациентки, которые курили ранее, но бросили курить, в 1,6 раз чаще имели высокий уровень АХВ, пациентки, курящие на момент исследования – в 11,1 раз чаще.

Таблица 3

Частота употребления алкоголя

Алкоголь	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	33 (30,3%)	93 (48,7%)	0,62 (0,45; 0,86)
1-2 раза в месяц	70 (64,2%)	89 (46,6%)	1,38 (1,12; 1,69)
1-2 раза в неделю	7 (6,4%)	8 (4,2%)	1,31 (0,47; 3,69)
3 раза в неделю и чаще	0	0	-

Среди пациенток, употребляющих алкоголь реже 1 раза в неделю, было больше пациенток с низким уровнем АХВ, чем с высоким – 48,7% против 30,3% ($p=0,0021$, χ^2). Среди пациенток, употребляющих алкоголь 1-2 раза в месяц было больше пациенток с высоким уровнем АХВ ($p=0,0032$, χ^2).

Таблица 4

Частота употребления рыбы

Рыба	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	12 (11,0%)	51 (26,7%)	0,41 (0,23; 0,74)
1-2 раза в месяц	48 (44,0%)	99 (51,8%)	0,85 (0,66; 1,09)
1-2 раза в неделю	44 (40,4%)	40 (20,9%)	1,92 (1,35; 2,76)
3 раза в неделю и чаще	5 (4,6%)	1 (0,5%)	8,76 (1,04; 74,03)

Пациентки, употреблявшие рыбу реже 1 раза в месяц, реже имели высокий уровень АХВ в крови. Напротив, частое употребление рыбы ассоциированы с высокой концентрацией АХВ: женщины, употреблявшие рыбу 1-2 раз в неделю, имели высокий уровень АХВ в 1,92 раза чаще, а употреблявшие рыбу 3 раза в неделю – в 8,76 раз чаще.

Таблица 5

Частота употребления консервированной еды (жестяные банки)

Консервированные банки	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	30 (27,5%)	107 (56,0%)	0,49 (0,35; 0,68)
1-2 раза в месяц	35 (32,1%)	69 (36,1%)	1,75 (1,17; 2,63)
1-2 раза в неделю	35 (32,1%)	13 (6,8%)	4,71 (2,61; 8,52)
3 раза в неделю и чаще	9 (8,3%)	2 (1,0%)	7,88 (1,73; 35,84)

В группе пациенток, употреблявших консервы реже 1 раза в месяц, было больше пациенток с низким уровнем АХВ (56,0% против 27,5%, $p<0,0001$, χ^2). Повышение частоты употребления консервированных продуктов ассоциировано с повышенным уровнем АХВ: пациентки, употреблявшие консервы 1-2 раза в месяца, имели высокий уровень АХВ в 1,75 раз чаще;

употреблявшие консервы 1-2 раза в неделю – в 4,71 раз чаще; употреблявшие консервы 3 раза в неделю – в 7,88 раз чаще.

Таблица 6

Частота употребления готовой еды

Готовая еда	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	22 (20,2%)	108 (56,5%)	0,35 (0,24; 0,53)
1-2 раза в месяц	27 (24,8%)	55 (28,8%)	0,86 (0,58; 1,28)
1-2 раза в неделю	33 (30,3%)	16 (8,4%)	3,61 (2,09; 6,26)
3 раза в неделю и чаще	27 (24,8%)	12 (6,3%)	3,94 (2,08; 7,46)

Среди пациенток, употреблявших готовую еду реже 1 раза в месяц, было меньше больше пациенток с низким уровнем АХВ: 56,5% против 20,2%, $p < 0,0001$, χ^2). Употребление готовой еды 1-2 раза в неделю увеличивало риск высокого уровня АХВ в 3,6 раз, употребление готовой еде больше 3 раз в неделю – в 3,9 раз.

Таблица 7

Использование микроволновой печи для разогрева пластиковой посуды

Микроволновая печь и пластик	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	29 (26,6%)	118 (61,8%)	0,43 (0,31; 0,60)
1-2 раза в месяц	20 (18,3%)	36 (18,8%)	0,97 (0,59; 1,59)
1-2 раза в неделю	30 (27,5%)	17 (8,9%)	3,09 (1,79; 5,34)
3 раза в неделю и чаще	30 (27,5%)	20 (10,5%)	2,68 (1,57; 4,40)

Среди пациенток, не использующих микроволновую печь для разогревания пластиковой посуды, было значительно больше пациенток с низким уровнем АХВ: 61,8% против 26,6%, $p < 0,0001$, χ^2).

Пациентки, разогревающие пластиковую посуду в микроволновой печи 1-2 раза в неделю, имели повышенный уровень АХВ в 3,1 раз чаще; чаще 3 раз в неделю – в 2,68 раз чаще.

Таблица 8

Употребление напитков из пластиковых бутылок

Пластиковые бутылки	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	22 (20,2%)	81 (42,4%)	0,47 (0,32; 0,72)
1-2 раза в месяц	33 (30,3%)	64 (33,5%)	0,90 (0,64; 1,28)
1-2 раза в неделю	31 (28,4%)	28 (14,7%)	1,94 (1,23; 3,05)
3 раза в неделю и чаще	23 (21,1%)	18 (9,4%)	2,23 (1,27; 3,96)

Среди пациенток, употреблявших напитки из пластиковых бутылок реже, чем 1 раз в месяц, было больше пациенток с низким уровнем АХВ: 42,4% против 20,2%, $p < 0,0001$, χ^2). Пациентки, употребляющие напитки из пластиковых бутылок 1-2 раза в неделю, имели высокий уровень АХВ в 1,94 раз чаще, 3 раза в неделю – в 2,23 раза чаще.

Таблица 9

Источники питьевой воды

Питьевая вода	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Водопроводная вода	38 (34,9%)	54 (28,3%)	1,23 (0,88; 1,74)
Фильтрованная вода	29 (26,6%)	97 (50,8%)	0,54 (0,37; 0,74)
Бутилированная вода	42 (38,5%)	40 (20,9%)	1,84 (1,28; 2,65)

Употребление бутилированной воды как основного источника питьевой воды было ассоциировано с повышением риска высокого уровня АХВ в 1,8 раз. Напротив, пациентки, чаще фильтрованную воду, реже имели высокий уровень АХВ (ОР 0,54).

Таблица 10

Уровень физической активности

Питьевая вода	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Низкая	63 (57,8%)	79 (41,4%)	1,39 (1,11; 1,76)
Средняя	41 (37,6%)	90 (47,1%)	0,79 (0,60; 1,06)
Высокая	5 (4,6%)	22 (11,5%)	0,39 (0,16; 1,02)

Пациентки, имеющие низкую физическую активность, имели высокий уровень АХВ в 1,39 раз чаще. Других статистических различий не отмечено.

Таблица 11

Качество жилья: период постройки дома проживания

Период постройки жилого дома	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
1990 г и позже	34 (31,2%)	95 (49,7%)	0,62 (0,46; 0,86)
1969-1989 гг	71 (65,1%)	85 (44,5%)	1,46 (1,19; 1,81)
до 1969 г	4 (3,7%)	11 (5,8%)	0,63 (0,21; 1,95)

Пациентки, постоянно проживающие в доме, построенном в период с 1969 по 1989 гг, имели высокий уровень АХВ в 1,46 раз чаще.

Таблица 12

Качество жилья: этаж

Этаж	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
1-4	72 (66,6%)	69 (36,1%)	1,82 (1,45; 2,31)
5-9	26 (23,9%)	70 (36,6%)	0,65 (0,44; 0,96)
10 и выше	11 (10,1%)	52 (27,2%)	0,37 (0,20; 0,68)

Наиболее неблагоприятным точки зрения экспозиции АХВ было проживание на нижних этажах (с 1 по 4 этаж): пациентки в 1,82 раза чаще имели высокий уровень АХВ.

Таблица 13

Качество жилья: место проживания

	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Город	83 (76,1%)	120 (62,8%)	1,21 (1,04; 1,41)
Загородный дом	6 (5,5%)	15 (7,9%)	0,7 (0,28; 1,75)
50%/50%	20 (18,3%)	56 (29,3%)	0,62 (0,40; 0,98)

Наиболее благоприятным с точки зрения экспозиции АХВ явилось частичное проживание за городом. Напротив, постоянное проживание в городе ассоциировано с повышенным риском высокого уровня АХВ (ОР 1,21).

Таблица 14

Использование денежных купюр и монет

Наличные деньги	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Реже 1 раза в месяц	12 (11,0%)	47 (24,6%)	0,44 (0,25; 0,81)
1-2 раза в месяц	49 (45,0%)	90 (47,1%)	0,95 (0,74; 1,23)
1-2 раза в неделю	27 (24,8%)	26 (13,6%)	1,82 (1,12; 2,95)
3 раза в неделю и чаще	21 (19,3%)	28 (14,7%)	1,26 (0,76; 2,11)

Пациентки, использующие наличные деньги реже 1 раза в месяц, реже имели высокий уровень АХВ (ОР 0,44). Использование наличных денег 1-2 раза в неделю ассоциировано с повышенным уровнем АХВ (ОР 1,82).

Таблица 15

Основные условия работы пациенток

Условия работы	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Небольшой кабинет	66 (60,6%)	58 (30,4%)	1,94 (1,53; 2,59)
Опен-спейс	21 (19,3%)	45 (23,6%)	0,81 (0,52; 1,30)
Открытый воздух	1 (0,9%)	2 (1,0%)	0,87 (0,08; 9,55)
Работа дома	21 (19,3%)	86 (45,0%)	0,42 (0,28; 0,65)

Наиболее благоприятными условиями работы с точки зрения уровня АХВ была работа из дома. Постоянное пребывание на рабочем месте в небольшом кабинете и закрытом помещении ассоциировано с повышенным риском высокого уровня АХВ в 1,94 раза.

Таблица 16

Время ежедневного пребывания на свежем воздухе

Свежий воздух	Высокий уровень АХВ, n=109	Низкий уровень АХВ, n=191	ОР (95%ДИ)
Менее 1 часа	46 (42,2%)	37 (19,4%)	2,17 (1,51; 3,13)
1-3 часа	57 (52,3%)	139 (72,8%)	0,71 (0,59; 0,88)
4-7 часов	6 (5,5%)	14 (7,3%)	0,75 (0,30; 1,90)
более 8 часов	0	1 (0,5%)	-

Пациентки, проводящие менее 1 часа в день на свежем воздухе, чаще имели высокий уровень АХВ (ОР 2,17).

Часть 2.

Таблица 17

Концентрация Hg, Pb и Cd в крови пациенток в зависимости от полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков

Факторы	Hg		Pb		Cd	
	медиана	p-уровень*	медиана	p-уровень*	медиана	p-уровень*
<i>GSTT1</i>						
наличие гена	0,78	0,0602	9,74	0,3455	0,31	0,6009
делеция гена	0,89		10,17		0,33	
<i>GSM</i>						
наличие гена	0,78	0,8739	10,05	0,5616	0,30	0,2205
делеция гена	0,81		9,57		0,33	
<i>GSTP1 rs1695</i>						
AA	0,90	0,0205	10,16	0,1807	0,32	0,4035
AG	0,66		9,37		0,29	
GG	0,98		9,75		0,30	
G+	0,70	0,1205	9,51	0,0684	0,29	0,1877
G-	0,90		10,16		0,32	
A+	0,78	0,0916	9,92	0,7695	0,31	0,4896
A-	0,98		9,75		0,30	
<i>GSTP1 rs1138272</i>						
CC	0,81	0,3138	9,93	0,6050	0,31	0,2444
CT	0,69		9,55		0,35	
TT	1,78		9,75		0,22	
C+	0,79	0,1289	9,92	0,7908	0,31	0,0951
C-	1,78		9,75		0,22	
T+	0,71	0,7185	9,65	0,3957	0,30	0,7443
T-	0,81		9,93		0,31	
<i>GPX1 rs1050450</i>						
CC	0,77	0,7455	10,05	0,6333	0,33	0,1096
CT	0,85		9,73		0,28	
TT	0,76		9,72		0,33	
C+	0,81	0,6489	9,95	0,8482	0,30	0,2101
C-	0,76		9,72		0,33	
T+	0,82	0,6529	9,72	0,4039	0,29	0,2176
T-	0,77		10,05		0,33	
<i>EPH1 rs1051740</i>						
CC	0,66	0,5142	9,42	0,4161	0,26	0,6379
CT	0,82		10,41		0,32	
TT	0,82		10,01		0,31	
C+	0,77	0,7531	9,75	0,9129	0,32	0,7036
C-	0,82		10,01		0,31	
T+	0,82	0,2500	10,09	0,2268	0,32	0,3449
T-	0,66		9,42		0,26	
<i>SOD rs4880</i>						
CC	0,98	0,2324	10,28	0,5170	0,30	0,8195
CT	0,76		9,74		0,32	
TT	0,77		9,75		0,30	
C+	0,81	0,4456	9,56	0,3558	0,31	0,4384
C-	0,77		9,75		0,30	
T+	0,77	0,0933	9,74	0,2513	0,31	0,5788
T-	0,98		10,28		0,30	
<i>CYP1A1 rs1048943</i>						
AA	0,81	0,2231	9,74	0,2401	0,31	0,2631

AG	0,64		10,65		0,35	
<i>CYP1A1 rs1799814</i>						
AC	0,70	0,4975	10,55	0,4473	0,29	0,1424
CC	0,80		9,83		0,31	
<i>CYP1A1 rs4646903</i>						
TT	0,78	0,1434	9,79	0,0129	0,31	0,5053
CT	0,88		10,39		0,30	
CC	0,34		6,31		0,27	
T+	0,82	0,0515	9,96	0,0032	0,32	0,2658
T-	0,34		6,31	0,27		
C+	0,83	0,8926	10,09	0,6218	0,30	0,9193
C-	0,78		9,79		0,31	
<i>NAT2 rs1801280</i>						
TT	0,73	0,4262	9,50	0,1552	0,30	0,9711
CT	0,82		10,41		0,32	
CC	0,86		9,65		0,31	
T+	0,77	0,4906	9,95	0,3851	0,31	0,8195
T-	0,86		9,65		0,31	
C+	0,85	0,1996	10,25	0,1963	0,31	0,9937
C-	0,73		9,50		0,30	
<i>NAT2 rs179930</i>						
AA	1,31	0,2386	10,06	0,6787	0,33	0,5797
AG	0,70		9,58		0,29	
GG	0,85		10,01		0,31	
A+	0,75	0,4205	9,63	0,9362	0,30	0,8661
A-	0,85		10,01		0,31	
G+	0,79	0,22293	9,86	0,4134	0,31	0,3469
G-	1,31		10,06		0,33	
<i>NAT2 rs17993</i>						
AA	0,81	0,2982	13,99	0,6191	0,17	0,3556
AG	0,62		10,08		0,27	
GG	0,82		9,73		0,31	
A+	0,68	0,1369	10,16	0,96867	0,23	0,4680
A-	0,82		9,73		0,31	
G+	0,79	-	9,79	-	0,31	-
G-	0,81		13,99		0,17	
<i>SULT1A1 rs9282861</i>						
AA	0,81	0,1695	10,74	0,5407	0,30	0,9894
AG	0,71		9,72		0,32	
GG	0,88		9,74		0,30	
A+	0,72	0,0688	9,93	0,9381	0,31	0,9629
A-	0,88		9,74		0,30	
G+	0,79	0,9526	9,73	0,3006	0,31	0,9062
G-	0,81		10,74		0,30	

* Краскела-Уаллиса/Манна-Уитни

Таблица 18

Концентрация бисфенола А и стирола в крови пациенток в зависимости от клинико-лабораторных данных и полиморфизма генов системы биотрансформации ксенобиотиков

Факторы	БФА в крови	БФА определяется в ФЖ, n(%)	Стирол в крови
---------	-------------	-----------------------------	----------------

	медиана	р-уровень*	медиана	р-уровень**	медиана	р-уровень*
<i>GSTT1</i>						
наличие гена	0,52	0,9348	39/239 (16,3%)	0,6821	8,85	0,6356
делеция гена	0,51		10/52 (19,2%)		8,90	
<i>GSM</i>						
наличие гена	0,52	0,5131	30/160 (18,8%)	0,2112	8,00	0,0017
делеция гена	0,52		19/131 (14,5%)		10,10	
<i>GSTP1 rs1695</i>						
AA	0,54	0,1940	23/139 (16,5%)	0,7761	8,60	0,9929
AG	0,51		22/121 (18,2%)		9,30	
GG	0,46		4/31 (12,9%)		8,90	
G+	0,51	0,0769	26/152 (17,1%)	0,5121	9,20	0,9421
G-	0,54		23/139 (16,5%)		8,60	
A+	0,52	0,3020	45/260 (17,3%)	0,3733	8,80	0,9112
A-	0,46		4/31 (12,9%)		8,90	
<i>GSTP1 rs1138272</i>						
CC	0,52	0,2110	37/239 (15,5%)	0,4076	8,80	0,0791
CT	0,51		11/47 (23,4%)		9,50	
TT	0,18		1/5 (20,0%)		5,20	
C+	0,52	0,0745	48/286 (16,8%)	0,6050	8,90	0,0252
C-	0,18		1/5 (20,0%)		5,20	
T+	0,48	0,4791	12/52 (23,1%)	0,1325	9,25	0,3928
T-	0,52		37/239 (15,5%)		8,80	
<i>GPX1 rs1050450</i>						
CC	0,51	0,8742	23/153 (15,0%)	0,5720	9,00	0,7258
CT	0,53		23/117 (19,7%)		8,90	
TT	0,52		3/21 (14,3%)		7,60	
C+	0,52	0,7431	46/270 (17,0%)	0,5157	8,90	0,4241
C-	0,52		3/21 (14,3%)		7,60	
T+	0,53	0,6310	26/138 (18,8%)	0,2398	8,65	0,8032
T-	0,51		23/153 (15,0%)		9,90	
<i>EPH1 rs1051740</i>						
CC	0,48	0,3621	7/31 (22,6%)	0,6475	7,70	0,1517

CT	0,52		19/122 (15,6%)		8,60	
TT	0,52		23/138 (16,7%)		9,80	
C+	0,52	0,9373	26/153 (17,0%)	0,5346	8,30	0,1149
C-	0,52		23/138 (16,7%)		9,80	
T+	0,52	0,1713	42/260 (16,2%)	0,2507	9,15	0,1120
T-	0,48		7/31 (22,6%)		7,70	
<i>SOD rs4880</i>						
CC	0,52	0,9339	12/56 (21,4%)	0,2502	8,75	0,1768
CT	0,52		29/162 (17,9%)		8,50	
TT	0,53		8/73 (11,0%)		10,75	
C+	0,52	0,9355	41/218 (18,8%)	0,0821	8,60	0,0636
C-	0,53		8/73 (11,0%)		10,75	
T+	0,52	0,8050	37/235 (15,7%)	0,2035	8,90	0,7204
T-	0,52		12/56 (21,4%)		8,75	
<i>CYP1A1 rs1048943</i>						
AA	0,52	0,7050	46/267 (17,2%)	0,7778	8,75	0,1190
AG	0,53		3/24 (12,5%)		9,75	
<i>CYP1A1 rs1799814</i>						
AC	0,52	0,4865	0/15 (0%)	0,0582	10,75	0,1934
CC	0,52		49/276 (17,8%)		8,80	
<i>CYP1A1 rs4646903</i>						
TT	0,52	0,4764	34/213 (16,0%)	0,1936	8,60	0,9255
CT	0,53		13/74 (17,6%)		9,35	
CC	0,43		2/4 (50,0%)		10,10	
T+	0,52	0,7472	47/287 (16,4%)	0,1335	8,80	0,9171
T-	0,43		2/4 (50,0%)		10,10	
C+	0,53	0,2820	15/78 (19,2%)	0,3100	9,50	0,6950
C-	0,52		34/213 (16,0%)		8,60	
<i>NAT2 rs1801280</i>						
TT	0,49	0,4571	18/91 (19,8%)	0,3050	7,10	0,0217
CT	0,52		18/136 (13,2%)		9,30	
CC	0,53		13/64 (20,3%)		10,90	
T+	0,52	0,7267	36/227 (15,9%)	0,2535	8,55	0,1799

T-	0,53		13/64 (20,3%)		10,90	
C+	0,52	0,3210	31/200 (15,5%)	0,4001	9,70	0,0061
C-	0,49		18/91 (19,8%)		7,10	
<i>NAT2 rs179930</i>						
AA	0,39	0,2981	2/20 (10,0%)	0,6949	6,20	0,0653
AG	0,51		21/119 (17,6%)		9,30	
GG	0,53		26/152 (17,1%)		8,90	
A+	0,51	0,3188	23/139 (16,5%)	0,5122	8,50	0,4623
A-	0,53		26/152 (17,1%)		8,90	
G+	0,52	0,1546	47/271 (17,3%)	0,3120	9,20	0,0196
G-	0,39		2/20 (10,0%)		6,20	
<i>NAT2 rs17993</i>						
AA	0,49	0,9650	0/1	0,9031	6,80	0,1734
AG	0,42		2/12 (16,7%)		7,15	
GG	0,52		47/278 (16,9%)		9,10	
A+	0,49	0,8152	2/13 (15,4%)	0,6212	7,10	0,0615
A-	0,52		47/278 (16,9%)		9,10	
G+	0,52	-	49/290 (16,9%)	0,8322	8,90	-
G-	0,49		0/1		6,80	
<i>SULT1A1 rs9282861</i>						
AA	0,45	0,7801	6/39 (15,4%)	0,1275	7,90	0,2592
AG	0,52		19/146 (13,0%)		9,70	
GG	0,53		24/106 (22,6%)		8,50	
A+	0,52	0,3354	25/185 (13,5%)	0,0341	9,20	0,1395
A-	0,53		24/106 (22,6%)		8,50	
G+	0,52	0,9117	43/152 (17,1%)	0,5034	8,90	0,7969
G-	0,45		6/39 (15,4%)		7,90	

* Краскела-Уаллиса/Манна-Уитни тест

** χ^2 -тест