

С.В. Чигринец^{1,2*}, Г.В. Брюхин¹¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России,
Челябинск, Российская Федерация² ООО «ДНК Клиника», Челябинск, Российская Федерация

Риск фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин при совместном воздействии эндокринных дизрапторов

Обоснование. Наиболее частым ультраструктурным изменением сперматозоидов является фрагментация ядерной ДНК. Многие авторы считают, что повреждения ДНК сперматозоидов могут служить диагностическим маркером негативного отцовского эффекта в предимплантационный период развития человека. Ряд исследований показали прямую зависимость между высоким процентом поврежденных ДНК сперматозоидов и частотой спонтанных аборт. С другой стороны, известно, что в основе повреждающего действия эндокринных дизрапторов, например триклозана и бисфенола А, лежит их способность индуцировать окислительный стресс, который рассматривается одним из факторов повреждения ДНК клеток. **Цель исследования** — оценить риск фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин при совместном влиянии бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола в семенной жидкости. **Методы.** Исследовано 84 образца семенной жидкости мужчин с нормо- и патозооспермией. В семенной жидкости определялись концентрации бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (GC-MS). Для проведения сравнительного анализа пациенты были разделены по степени фрагментации ДНК сперматозоидов на две группы — с ДНК-фрагментацией сперматозоидов <15% (n=18) и ≥15% (n=29). Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (2010) с учетом оценки количества, подвижности и морфологии сперматозоидов, а также степени фрагментации ДНК сперматозоидов. **Результаты.** Бисфенол А, триклозан и 4-нонилфенол были обнаружены в 100; 84,3 и 98,1% образцов эякулята со средней концентрацией 0,150; 0,11 и 0,16 нг/мл соответственно. Группы сравнения были статистически значимо различимы по концентрации бисфенола А и триклозана — $p=0,014$ и $p<0,001$ соответственно. Триклозан при увеличении концентрации в семенной жидкости на 0,1 нг/мл повышал шанс развития степени ДНК-фрагментации ≥15% в 2,9 раза. Отношение шансов бисфенола А и 4-нонилфенола на повреждение ДНК оказались статистически незначимыми. Прогностическая модель совместного влияния эндокринных дизрапторов на повреждение ДНК, построенная с помощью анализа множественной логистической регрессии, также оказалась статистически значимой только в отношении влияния триклозана. **Заключение.** Риск повреждения ДНК сперматозоидов у мужчин связан в первую очередь с влиянием триклозана в семенной жидкости. Вместе с этим следует предположить отсутствие синергического эффекта бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола на повреждение ДНК сперматозоидов у мужчин.

Ключевые слова: ДНК-фрагментация, эндокринные дизрапторы, бисфенол А, триклозан, 4-нонилфенол.

(Для цитирования: Чигринец С.В., Брюхин Г.В. Риск фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин при совместном воздействии эндокринных дизрапторов. Вестник РАМН. 2019;74(4):229–234. doi: 10.15690/vramn1173)

Обоснование

Рост общего процента семей, страдающих бесплодием, а также низкое качество здоровья мужского населения являются тревожными знаками для перспективы будущего нации. «Критерий настороженности», установленный Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), или доля бесплодных семей, составляет 15% от общего их числа. В Российской Федерации этот показатель еще больше — 17%. По мнению экспертов в сфере демографической политики, для прекращения процесса депопуляции в Российской Федерации необходимо чтобы суммарный коэффициент рождаемости на одну женщину репродуктивного возраста составлял 2,1, который в настоящее время не превышает 1,7 [1, 2]. Устранение сложившегося дисбаланса неразрывно связано с необходимостью решения проблемы патологии репродуктивной системы, к которой относится не только бесплодие, но и невынашивание беременности. С медицинской точки зрения, уникальность этих патологических состояний связана с тем, что они являются результатом взаимодействия мужского и женского факторов — двух половых партнеров, состояние здоровья каждого из которых оказывает свое влияние на результат — появление на свет здорового потомства.

Причины и механизмы невынашивания беременности остаются малоизученными, о чем свидетельствует значительная доля (до 40%) невынашивания с неизвестной причиной [2]. Вместе с тем, если материнские и плодовые факторы изучаются достаточно интенсивно, то оценке вклада мужского фактора как причины репродуктивных потерь и невынашивания беременности посвящен весьма ограниченный круг исследований. Анализируя репродуктивные потери, связанные с мужским фактором, следует иметь в виду, что морфофункциональные нарушения сперматозоидов на субклеточном уровне, нередко не выявляемые при стандартном исследовании эякулята, сопровождаются после оплодотворения достоверно большей эмбриональной смертностью и увеличением процента аномалий внутриутробного развития. В связи с этим значение сперматозоидов — не только в доставке генетического материала к яйцеклетке и индукции формирования яйцеклетки и зиготы, но и в поддержании развития зародыша на протяжении первых этапов беременности [3].

Наиболее частым ультраструктурным изменением сперматозоидов является фрагментация ядерной ДНК, представленная одно-/двухцепочечными разрывами молекулы ДНК. Многие авторы считают, что повреждения ДНК сперматозоидов могут служить диагностическим

маркером негативного отцовского эффекта в предимплантационный период развития человека [4–8]. Ряд исследований [1, 3, 9, 10] показал прямую зависимость высокого процента повреждений ДНК сперматозоидов с частотой спонтанных аборт. Так, при наличии фрагментации ДНК сперматозоидов выше 30% прогнозируется практически нулевая вероятность оплодотворения при внутриматочной инсеминации [1]. М. Eisenberg и соавт., проанализировав потерю одноплодной беременности в 98 парах с позиции мужского фактора (количество и концентрация сперматозоидов, их подвижность и морфология, а также степень фрагментации ДНК сперматозоидов), пришли к выводу, что стандартные показатели спермограммы мало связаны с риском невынашивания беременности на популяционном уровне. Вместе с этим степень ДНК-фрагментации сперматозоидов $\geq 30\%$ показала статистически значимую связь с невынашиванием беременности [6]. В настоящее время в литературе обсуждаются три основные теории, объясняющие повреждение генетического материала, — неполный (абортивный) апоптоз, дефект созревания хроматина и оксидативный стресс. С другой стороны, известно, что повреждающее действие ксенобиотиков (эндокринных дизрапторов, EDs) на организм человека, например триклозана (triclosan, TCS) и бисфенола А (bisphenol A, BPA), обусловлено их способностью индуцировать окислительный стресс [11, 12], лежащий в основе фрагментации ДНК сперматозоидов [13]. Влияние триклозана и бисфенола А на ДНК клеток, в том числе сперматозоидов, показано в некоторых работах [14–16].

Цель исследования — оценить риск фрагментации ДНК сперматозоидов у мужчин при совместном влиянии бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола (4-Nonylphenol, 4-NP) в семенной жидкости.

Методы

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одноцентровое одномоментное (поперечное) неконтролируемое исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения в исследование:

- мужчины в возрасте 22–40 лет;
- наличие бесплодия неустановленного генеза с патозооспермией;
- репродуктивные потери в супружеской паре с патозооспермией;
- планирование беременности в супружеской паре с нормозооспермией;
- доноры спермы;
- подписанное информированное добровольное согласие на включение в данное исследование.

Критерии исключения из исследования:

- варикоцеле;
- инфекции уrogenитального тракта;
- лейкоспермия;
- МАР-тест (mixed antiglobulin reaction — смешанный антиглобулиновый тест) $> 10\%$;
- азооспермия;
- гипогонадизм и другие эндокринные заболевания;
- онкологические заболевания любой локализации;
- системные заболевания;
- неподписанное информированное добровольное согласие на включение в данное исследование.

Условия проведения

Набор пациентов производился во время амбулаторного приема на базе ДНК Клиники (Центр лечения

230

S.V. Chigrinets^{1, 2*}, G.V. Brukhin¹

¹ South-Ural State Medical University of Russian Ministry of Health, Chelyabinsk, Russian Federation

² DNK Clinic, Chelyabinsk, Russian Federation

The Risk of Sperm Damage in Men with the Combined Effect of Endocrine Disruptors

Background: The most frequent ultrastructural change in sperm cells is nuclear DNA fragmentation. Many authors believe that DNA damage to sperm cells can serve as a diagnostic marker of a negative paternal effect in the pre-implantation period of human development. A number of studies have shown a direct correlation between the high percentage of sperm DNA damage and the frequency of spontaneous abortions. On the other hand, it is known that the damaging effect of endocrine disruptors, for example, triclosan and bisphenol A, is based on their ability to induce oxidative stress, which is considered as one of the factors in cell DNA damage. **Aims:** to assess the risk of sperm DNA fragmentation in men with the combined effect of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in seminal fluid. **Materials and methods:** 84 samples of seminal fluid of men with normo- and patozoospermia were studied. The concentration of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol in gas was determined by gas chromatography with mass spectrometry (GC-MS). The comparison groups were divided according to the degree of DNA fragmentation of spermatozoa into two groups: the 1st group of patients with DNA fragmentation of spermatozoa $< 15\%$ ($n=18$) and the 2nd group $\geq 15\%$ ($n=29$). The spermological study was carried out according to the WHO recommendations (2010) taking into account the assessment of the number of spermatozoa, their motility and morphology, as well as the degree of fragmentation of the sperm DNA. **Results:** Bisphenol A was found in 100% of the ejaculate samples with a median concentration of 0.150 ng/ml. Triclosan and 4-nonylphenol were detected in 84.3 and 98.1% of ejaculate samples with a median concentration of 0.11 and 0.16 ng/ml respectively. Comparison groups were statistically significantly distinguished by the concentration of bisphenol A and triclosan — $p=0.014$; $p<0.001$ respectively. Triclosan with an increase in concentration in seminal fluid by 0.1 ng/ml increased the chance of development of the degree of DNA fragmentation $\geq 15\%$ by 2.9 times. The odds ratio of bisphenol A and 4-nonylphenol to DNA damage was not statistically significant. The prognostic model of the joint effect of endocrine disruptors on DNA damage, constructed using multiple logistic regression analysis, was also found to be statistically significant only with respect to the effect of triclosan. **Conclusions:** The risk of damage to sperm DNA in men is primarily associated with the effect of triclosan in seminal fluid. At the same time, it is necessary to assume the absence of a synergistic effect of bisphenol A, triclosan and 4-nonylphenol on the DNA damage of spermatozoa in men.

Keywords: DNA fragmentation, endocrine disruptors, bisphenol A, triclosan, 4-nonylphenol.

(**For citation:** Chigrinets SV, Brukhin GV. The risk of sperm damage in men with the combined effect of endocrine disruptors. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2019;74(4):229–234. doi: 10.15690/vramn1173)

бесплодия, Челябинск) среди мужчин, обратившихся за консультативной помощью с целью выполнения спермиологического исследования в связи с бесплодием в браке, невынашиванием беременности партнершей, а также планированием беременности или донорством спермы. Все пациенты проживали в Челябинске или Челябинской области.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с ноября 2017 по октябрь 2018 г.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам проводился спермиологический анализ. Эякулят собирался после 3–4 дней воздержания от семяизвержений. Для оценки уровня репродуктивных гормонов осуществляли забор крови утром натощак до 9 ч. С целью проведения исследования на инфекцию урогенитального тракта осуществлялся забор материала из уретры минимум через 3 ч с момента последнего мочеиспускания. Для исключения патологии органов мошонки (варикоцеле, микролитиаз яичек и др.) всем участникам было выполнено ультразвуковое исследование органов мошонки.

Исходы исследования

Основной исход исследования: в работе оценивалось совместное влияние ВРА, TCS и 4-NP, измеренных в семенной жидкости, на повреждение ДНК сперматозоидов. Вместе с этим определялся вклад каждого эндокринного дизраптора в развитие ДНК-фрагментации сперматозоидов при фиксированном значении концентрации остальных EDs (endocrine disruptors).

Анализ в подгруппах

При оценке качества 84 образцов эякулята пациенты были разделены на две группы: 1-я группа была представлена пациентами с нормозооспермией ($n=36$), 2-я группа — с патозооспермией ($n=48$). Для проведения сравнительного анализа пациенты были разделены по степени фрагментации ДНК сперматозоидов на две группы: в 1-й группе пациентов ДНК-фрагментация сперматозоидов $<15\%$ ($n=18$), во 2-й — $\geq 15\%$ ($n=29$).

Методы регистрации исходов

Спермиологическое исследование проводилось согласно рекомендациям ВОЗ (2010) с оценкой общего количества, концентрации, подвижности, морфологии нормальных форм сперматозоидов по Крюгеру и степени фрагментации ДНК сперматозоидов. Заключение по спермограмме «Нормозооспермия» или «Патозооспермия» основывалось на критериях, изложенных в тех же рекомендациях ВОЗ (2010) [17]. Для оценки индекса фрагментации ДНК сперматозоидов использовался метод дисперсии хроматина спермы (sperm chromatin dispersion, SCD) с помощью набора GoldCyto DNA Assist Kit (MTM Laboratories AG, Германия). Нормативным значением степени фрагментации ДНК сперматозоидов считали менее 15% (низкий риск нарушения фертильности и невынашивания беременности). Эндокринные дизрапторы в семенной жидкости определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометром Shimadzu GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu Corporation, Япония). Данные обрабатывались с помощью программы GCMSsolution 4.3 (Shimadzu Corporation, Япония). Оценка уровня репродуктивных гормонов крови проводилась на приборе Immulite 1000

(США). Ультразвуковое исследование органов мошонки выполняли на аппарате Mindray DC-7 (Китай) в положениях пациента лежа и стоя во время андрологического приема.

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено 21.11.2017 г. Локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО «ЮУГМУ» Минздрава, выписка из протокола № 9.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистический анализ полученных данных выполнялся с помощью программы IBM SPSS Statistics v.21 (IBM Corp., Armonk, NY, США). Проверка нормальности распределения переменных проводилась с учетом объема выборки с использованием критерия Колмогорова–Смирнова или Шапиро–Уилка. Результаты исследования представлены как медиана с интерквартильным размахом $Me (Q_1-Q_3)$ или как средняя со стандартным отклонением ($M \pm \sigma$) при нормальном распределении выборки. Для определения статистически значимых различий между группами использовался U-критерий Манна–Уитни. Для построения прогностической модели совместного влияния эндокринных дизрапторов (ВРА, TCS и 4-NP) на риск развития повышенной степени фрагментации ДНК сперматозоидов и оценки отношения шансов (ОШ) для каждого эндокринного дизраптора использовался метод множественной логистической регрессии. Различия между группами считались статистически значимыми при $p < 0,05$ и/или отсутствии единицы в доверительном интервале (ДИ) при расчете ОШ.

231

Результаты

Объекты (участники) исследования

Из 84 пациентов, которые приняли участие в исследовании, 36 (43%) мужчин были с нормозооспермией, планирующие беременность в браке, или доноры спермы и 48 (57%) — с идиопатической формой бесплодия и/или репродуктивными потерями в супружеской паре с различными вариантами патозооспермии. В группах сравнения, разделенных по степени фрагментации ДНК сперматозоидов, средний возраст пациентов ($\pm \sigma$) составил $30,8 \pm 3,9$ года, средний индекс массы тела ($ИМТ \pm \sigma$) — $24,3 \pm 2,8$ кг/м², при этом 42% мужчин были с избыточной массой тела ($ИМТ 25-30$) и 10% — с ожирением 1-й степени ($ИМТ > 30$).

Группы сравнительного анализа были сопоставимы по возрасту, периоду воздержания от семяизвержений, ИМТ, курению и приему алкоголя (табл. 1). При этом частота фрагментации ДНК сперматозоидов $\geq 15\%$ среди курящих и употребляющих алкоголь составила 72,7 и 68,7% соответственно, среди некурящих и неупотребляющих алкоголь — 65,2 и 75,0%.

Основные результаты исследования

ВРА, TCS и 4-NP были обнаружены в 100; 84,3 и 98,1% образцов эякулята соответственно со средней концентрацией 0,150 (0,06–0,29); 0,11 (0,05–0,21) и 0,16 (0,06–0,40) нг/мл соответственно. Варианты патозооспермии (57%) были представлены следующим образом: частота встречаемости тератозооспермии — 28,6% ($n=24$), астенотератозооспермии — 14,3% ($n=12$), олиготератозооспермии — 8,3% ($n=7$), олигоастенозооспермии — 2,4%

Таблица 1. Сопоставление групп по возрасту, ИМТ, периоду воздержания, статусу курения и употребления алкоголя

Параметры		1-я группа, n=18 ИФ ДНК <15%	2-я группа, n=29 ИФ ДНК ≥15%	p
Возраст, лет, M±σ		31,9±3,2	30,8±3,4	0,249
ИМТ, кг/м ² , M±σ		24,6±2,4	26,0±3,0	0,176
Период воздержания, сут Me (Q1–Q3)		4,0 (3,0–4,0)	4,0 (3,0–4,0)	1,0
Курение (%)	Некурящие	8 (34,8)	15 (65,2)	1,0
	Курящие	3 (27,3)	8 (72,7)	
Алкоголь (%)	Непьющие	4 (25,0)	12 (75,0)	1,0
	Пьющие	5 (31,3)	11 (68,7)	
Концентрация ВРА, нг/мл Me (Q1–Q3)		0,06 (0,04–0,15)	0,18 (0,11–0,31)	0,014
Концентрация TCS, нг/мл Me (Q1–Q3)		0,08 (0,0–0,10)	0,19 (0,13–0,32)	<0,001
Концентрация 4-NP, нг/мл Me (Q1–Q3)		0,20 (0,10–0,30)	0,14 (0,06–0,42)	0,900

Примечание. ИМТ — индекс массы тела, ИФ — индекс фрагментации ДНК сперматозоидов.

232

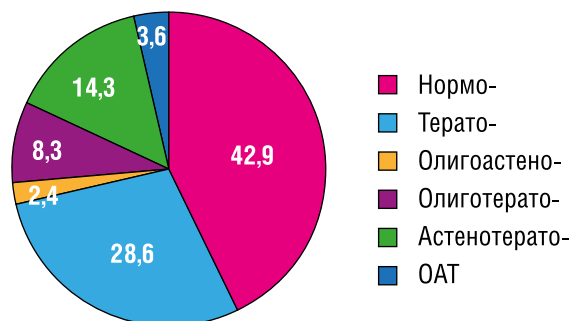


Рис. 1. Доля нормозооспермии и различных вариантов патозооспермии (%)

Примечание. ОАТ — олигоастенотератозооспермия (ОАТ-синдром).

(n=2), олигоастенотератозооспермии (ОАТ-синдром) — 3,6% (n=3) (рис. 1).

Группы пациентов, включенные в сравнительный анализ, статистически значимо различались по концентрации ВРА и TCS в семенной жидкости. Так, у мужчин с фрагментацией ДНК сперматозоидов ≥15% концентрация ВРА и TCS в семенной жидкости оказалась выше, а концентрация 4-NP — ниже, хотя различия оказались статистически незначимыми (см. табл. 1; рис. 2).

С целью оценки совместного влияния эндокринных дизрапторов (ВРА, TCS и 4-NP) на высокий риск фрагментации ДНК сперматозоидов ≥15%, которая ассоциирована со снижением фертильности сперматозоидов и невынашиванием беременности в супружеской паре по мужскому фактору, мы использовали метод множествен-

ного регрессионного анализа. Наблюдаемая зависимость может быть описана следующим уравнением:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

$$z = -1,01 + 2,75ВРА + 10,71TCS - 1,37NP,$$

где p — вероятность наличия ДНК-фрагментации ≥15%; e (экспонента) — постоянная, приблизительно равная 2,7; z — мера полного вклада всех факторов риска (ВРА, TCS и 4-NP), используемых в прогностической модели; ВРА — концентрация бисфенола А в семенной жидкости (нг/мл); TCS — концентрация триклозана в семенной жидкости (нг/мл); 4-NP — концентрация 4-нонилфенола в семенной жидкости (нг/мл).

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, факторы ВРА и TCS имеют прямую связь с вероятностью развития степени фрагментации ДНК сперматозоидов ≥15%, а 4-NP — обратную связь.

Полученная регрессионная модель является статистически значимой (p=0,005). Однако в данном уравнении только коэффициент регрессии для TCS оказался статистически значимым (табл. 2). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель учитывает 38,7% факторов, определяющих вероятность развития нарушения фертильности и невынашивания беременности в супружеской паре по ДНК-фрагментации сперматозоидов. Модель считается информативной, если коэффициент детерминации больше 0,5. Диагностическая эффективность модели составила 80% с чувствительностью 62% и специфичностью 89%. Таким образом, можно предположить отсутствие синергического эффекта для данных EDs.

Таблица 2. Отношение шансов развития ДНК-фрагментации ≥15% при влиянии эндокринных дизрапторов в семенной жидкости

Переменная в модели	Регрессионные коэффициенты (B)	Стандартная ошибка B	Значимость коэффициента регрессии, p	ОШ	95% ДИ для ОШ	
					Нижняя граница	Верхняя граница
NP	-1,373	2,412	0,569	0,253	0,002	28,624
TCS	10,711	5,282	0,043*	44824,281	1,430	1405164955,017
ВРА	2,754	2,511	0,273	15,710	0,114	2156,712
Константа	-1,013	0,804	0,207	0,363	-	-

Примечание.* — связь статистически значимая (p<0,05).

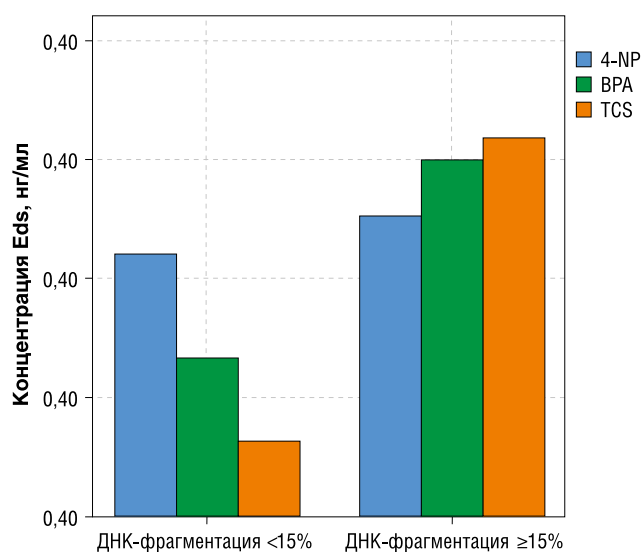


Рис. 2. Сравнение групп по концентрации EDs (нг/мл) в семенной жидкости

ОШ позволяет оценить шанс развития степени фрагментации ДНК сперматозоидов $\geq 15\%$ при изменении концентрации одного из дизрапторов на единицу с фиксацией остальных переменных модели. Так как изменение концентрации данных EDs на единицу очень значительно, то значения ОШ очень велики. В связи с этим шаг изменения концентрации фенольных соединений выбран в 0,1 нг/мл. Так, при увеличении концентрации TCS в семенной жидкости на 0,1 нг/мл при фиксации концентрации других дизрапторов шанс развития повышенной ДНК-фрагментации сперматозоидов возрастает в 2,9 раза ($e^{0,1 \cdot 10,711}$). Данный фактор оказался статистически значимым (ДИ для ОШ не включает единицы). При увеличении концентрации BPA в семенной жидкости на 0,1 нг/мл при фиксации концентрации других дизрапторов шанс развития повышенной ДНК-фрагментации сперматозоидов возрастает только в 1,3 раза ($e^{0,1 \cdot 2,754}$), при этом 95% ДИ 0,11–2156,71 для ОШ включает единицу (фактор статистически незначим). С увеличением концентрации 4-NP в семенной жидкости на 0,1 нг/мл шанс развития ДНК-фрагментации сперматозоидов $\geq 15\%$ снижается ($e^{0,1 \cdot 1,373}$), т.к. ОШ 0,87; 95% ДИ 0,0–28,62, при этом доверительный интервал для ОШ также включает единицу (см. табл. 2).

Нежелательные явления

Нежелательных явлений не наблюдалось.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В данном исследовании построена прогностическая модель совместного влияния эндокринных дизрапторов (BPA, TCS и 4-NP) в семенной жидкости на риск развития степени фрагментации ДНК сперматозоидов $\geq 15\%$ с оценкой вклада каждого эндокринного дизраптора в исход (патологию).

Обсуждение основного результата исследования

Полученные результаты позволяют предположить, что риск развития степени фрагментации ДНК сперматозоидов $\geq 15\%$ связан в первую очередь с действием TCS в семенной жидкости, а не с действием бисфено-

ла А и 4-NP, а также отсутствием синергического эффекта данных фенольных соединений на повреждение ДНК сперматозоидов. Интересно отметить, что влияние бисфенола А и триклозана, с одной стороны, и 4-нонилфенола — с другой на риск повышенной фрагментации ДНК сперматозоидов оказалось разнонаправленным и неодинаковым по силе. Так, в случае BPA и TCS связь с повреждением ДНК была прямой, а в случае с 4-NP — оказалась обратной. Можно предположить, что 4-нонилфенол, обнаруживаемый в семенной жидкости в интервале концентраций 0,06–0,40 нг/мл (Q1–Q3), будет иметь обратную связь с ДНК-фрагментацией $\geq 15\%$, другими словами, играть некую «протективную роль».

Известно, что организм человека одновременно подвержен воздействию смеси десятков или даже сотен EDs (коэргизм ксенобиотиков, «токсический коктейль») в разных дозах и в разные периоды жизни, включая самые ранние и самые чувствительные периоды развития. В одних случаях обнаруживается взаимопотенцирующий эффект, в других — его ослабление вследствие антагонизма отдельных ксенобиотиков [18–20]. Вместе с тем понятно, что даже чрезвычайно малые дозы EDs могут приводить к биологическим изменениям, а последствия воздействия малых доз EDs нельзя экстраполировать на ситуацию с воздействием больших доз EDs на организм, и наоборот. Так, W. Zhu и соавт. [21], изучая влияние триклозана в моче на качество эякулята у мужчин, показали статистически значимую связь между концентрацией TCS в нижнем квинтиле с параметрами спермы при отсутствии такой связи со средним и верхним квинтилями.

В связи с этим выдвигается гипотеза о немономонотонном ответе на дозу EDs (NMDR, non-monotonic dose-response): это означает, что ответ (негативный) не всегда повышается/снижается при повышении/снижении дозы и имеет форму U-образной или перевернутой U-образной кривой [20, 22]. Отсутствие так называемой безопасной дозы воздействия EDs необходимо иметь в виду при установлении связи между влиянием EDs и возникновением заболеваний или функциональных дисбалансов, что представляется более корректным в противовес связыванию начала болезни с воздействием одного конкретного ксенобиотика в определенной дозе.

Ограничения исследования

Основным фактором, который может значимо повлиять на результаты данного исследования, является влияние на репродуктивное здоровье мужчин других эндокринных дизрапторов (фталатов, тяжелых металлов, бензапирена и др.), а также сравнительно высокая общая токсическая нагрузка на исследуемых пациентов. Следует отметить, что недостаточный объем выборки пациентов, которым проводили исследование по измерению BPA, TCS и 4-NP в семенной жидкости, связан с трудоемкостью и финансовой затратностью данного исследования.

Заключение

Влияние изучаемых эндокринных дизрапторов может иметь прямую, как в случае с TCS и BPA, и обратную при воздействии 4-NP зависимость с патологическим процессом (степень фрагментации ДНК сперматозоидов $\geq 15\%$), что, вероятно, связано в том числе с концентрацией ксенобиотика в тканях организма. Риск развития повышенной ДНК-фрагментации у мужчин в первую очередь

связан с влиянием триклозана в семенной жидкости, а не других фенольных соединений (бисфенола А и 4-нонилфенола). Вместе с этим следует предположить отсутствие синергического эффекта бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола на повреждение ДНК сперматозоидов у мужчин.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Проведенное исследование выполнено на собственные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов: все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Выражение признательности. Авторы статьи выражают слова благодарности руководителю службы качества ООО «ХромсистемсЛаб» (Москва) Золкиной Ирине Вячеславовне за организацию и проведение исследования по детекции бисфенола А, триклозана и 4-нонилфенола в семенной жидкости методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Бесплодный брак. Версии и контраверсии* / Под ред. В.Е. Радзинского. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018. — 404 с. [*Besplodnyi brak. Versii i kontraversii*. Ed by V.E. Radzinskii. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. 404 p. (In Russ).]
2. *Демография для практических работников: методические рекомендации для специалистов органов исполнительной власти субъектов Российской Федерации* / Под ред. Л.Л. Рыбаковского. — М.: Экон-информ; 2014. — 254 с. [*Demografiya dlya prakticheskikh rabotnikov: metodicheskie rekomendatsii dlya spetsialistov organov ispolnitel'noi vlasti sub»ektov Rossiiskoi Federatsii*. Ed by L.L. Rybakovskii. Moscow: Ekon-inform; 2014. 254 p. (In Russ).]
3. Артифексова А.А. Патогенетические аспекты мужской субферильности как причины репродуктивных потерь // *Проблемы репродукции*. — 1999. — Т.5. — №6. — С. 37–41. [Artifeksova AA. Patogeneticheskie aspekty muzhskoi subfebril'nosti kak prichiny reproduktivnykh poter'. *Problemy reproduksii*. 1999;5(6):37–41. (In Russ).]
4. Høst E, Lindenberg S, Smidt-Jensen S. The role of DNA strand breaks in human spermatozoa used for IVF and ICSI. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2000;79(7):559–563. doi: 10.1034/j.1600-0412.2000.079007559.x.
5. Zini A, Meriano J, Kader K, et al. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod*. 2005;20(12):3476–3480. doi: 10.1093/humrep/dei266.
6. Eisenberg ML, Sapra KJ, Kim SD, et al. Semen quality and pregnancy loss in a contemporary cohort of couples recruited before conception: data from the Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment (LIFE) Study. *Fertil Steril*. 2017;108(4):613–619. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.07.008.
7. Morris ID, Hott S, Dixon L, Brison DR. The spectrum of DNA damage in human sperm assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development. *Hum Reprod*. 2002;17(4):990–998. doi: 10.1093/humrep/17.4.990.
8. Tomsu M, Sharma V, Miller D. Embryo quality and IVF treatment outcomes may correlate with different sperm comet assay parameters. *Hum Reprod*. 2002;17(7):1856–1862. doi: 10.1093/humrep/17.7.1856.
9. Larson KL, DeJonge CJ, Barnes AM, et al. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*. 2000;15(8):1717–1722. doi: 10.1093/humrep/15.8.1717.
10. Filatov MV, Semenova EV, Vorob'eva OA, et al. Relationship between abnormal sperm chromatin packing and IVF results. *Mol Hum Reprod*. 1999;5(9):825–830. doi: 10.1093/molehr/5.9.825.
11. Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J Toxicol Environ Health Crit Rev*. 2017;20(8):447–469. doi: 10.1080/10937404.2017.1399306.
12. Tomza-Marciniak A, Stępkowska P, Kuba J, Pilarczyk B. Effect of bisphenol A on reproductive processes: a review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. *J Appl Toxicol*. 2018;38(1):51–80. doi: 10.1002/jat.3480.
13. Belloc S, Benkhalifa M, Cohen-Bacrie M, et al. Sperm deoxyribonucleic acid damage in normozoospermic men is related to age and sperm progressive motility. *Fertil Steril*. 2014;101(6):1588–1593. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.02.006.
14. Mínguez-Alarcón L, Hauser R, Gaskins AJ. Effects of bisphenol A on male and couple reproductive health: a review. *Fertil Steril*. 2016;106(4):864–870. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1118.
15. Gao L, Yuan T, Cheng P, et al. Effects of triclosan and triclocarban on the growth inhibition, cell viability, genotoxicity and multixenobiotic resistance responses of *Tetrahymena thermophila*. *Chemosphere*. 2015;139:434–440. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.059.
16. Jurewicz J, Radwan M, Wielgomas B, et al. Environmental levels of triclosan and male fertility. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2018;25(6):5484–5490. doi: 10.1007/s11356-017-0866-5.
17. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. 5th ed. Geneva: WHO; 2010.
18. Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, et al. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology*. 2012;153(9):4097–4110. doi: 10.1210/en.2012-1422.
19. Buck Louis GM. Persistent environmental pollutants and couple fecundity: an overview. *Reproduction*. 2014;147(4):R97–R104. doi: 10.1530/REP-13-0472.
20. Axelstad M, Hass U, Scholze M, et al. EDC IMPACT: Reduced sperm counts in rats exposed to human relevant mixtures of endocrine disruptors. *Endocrine Connections*. 2018;7(1):139–148. doi: 10.1530/ec-17-0307.
21. Zhu W, Zhang H, Tong C, et al. Environmental exposure to triclosan and semen quality. *Int J Environ Res Public Health*. 2016;13(2):224. doi: 10.3390/ijerph13020224.
22. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev*. 2012;33(3):378–455. doi: 10.1210/er.2011-1050.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Чигринец Станислав Владимирович* [Stanislav V. Chigrinets]; адрес: 454092, Челябинск, ул. Воровского, 64 [address: 64, Vorovskogo street, 454092 Chelyabinsk, Russia]; e-mail: chigrinstas@gmail.com, SPIN-код: 2278-8992, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7072-8289>

Брюхин Геннадий Васильевич, д.м.н., профессор [Gennadiy V. Brukhin, MD, PhD, Professor]; e-mail: bgenvas@mail.ru, SPIN-код: 7691-8383, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3898-766X>