

Les polluants de l'air influencent-ils la reproduction humaine ?

Par Rémy Slama

Unité mixte Inserm-INED-U569-Épidémiologie, démographie et sciences sociales, Hôpital de Bicêtre, Université Paris-Sud

Bien que certains travaux concernant l'influence de la pollution de l'air sur la reproduction humaine remontent aux années 1970 [1], c'est à partir de la fin des années 1990 que la question a réellement commencé à intéresser les scientifiques. En excluant les études mentionnant les effets du tabagisme, on répertoriait dans PubMed, pour les années 2004-2005, sous les mots clés "Air pollution et reproduction", 52 articles concernant l'Homme, contre 37 en 1999-2000 et 23 en 1994-1995 ; et il n'y avait que 10 articles sur ce thème en 1989-1990 [2]. Plusieurs revues de la littérature ont été publiées très récemment [3-6]. Il s'agit donc réellement d'un domaine qui s'ouvre et pour lequel il est important de tenter de dresser un premier panorama.

La reproduction humaine

La reproduction humaine inclut l'ensemble des étapes allant de la gamétogenèse, la conception, le développement intra-utérin jusqu'à la naissance de l'enfant. Son étude concerne tous les âges de la vie : les nouveau-nés, les adolescents chez qui le développement pubertaire peut être étudié, les adultes en âge de se reproduire... Nous excluons ici la littérature concernant les effets de la pollution de l'air sur la santé et la mortalité du nouveau-né, qui nécessite à elle seule de larges développements [7].

Les épidémiologistes, cliniciens, endocrinologues ont développé des outils permettant de caractériser les différentes étapes de la reproduction [8,9]. Si la gamétogenèse masculine peut être étudiée à l'âge adulte

par la mesure des caractéristiques hormonales et spermatiques, le pendant féminin de ces travaux reste délicat en population générale du fait de l'utilisation très fréquente de la contraception hormonale féminine et de la difficulté de quantifier la réserve ovarienne.

L'étude de la probabilité de grossesse des couples, marqueur de leur fertilité, peut se faire en mesurant le délai nécessaire pour concevoir, qui dépend tout à la fois du bon déroulement de la gamétogenèse masculine et féminine et de la réussite de l'implantation de l'embryon, ainsi que de sa survie, dans les toutes premières semaines de grossesse. Nous verrons un exemple d'étude sur les relations entre l'exposition à la pollution atmosphérique et la probabilité de grossesse [10] ; malgré son originalité, ce travail est peu informatif du fait de limites méthodologiques dans la mesure de l'exposition, et la question nécessite donc encore d'être défrichée.

La mortalité intra-utérine est la plus élevée au cours du premier trimestre de grossesse et est quantifiée par la survenue de fausses-couches spontanées (jusqu'à 20 semaines de gestation) ou de mortinatalité (de 21 semaines de gestation jusqu'à la naissance). Si le risque de fausse-couche spontanée n'a pas encore été étudié en relation avec la pollution atmosphérique, il existe un petit nombre d'étude sur la mortinatalité ; l'une d'entre elles, réalisée à São Paulo [11], est présentée ici et va dans le sens d'un effet délétère des polluants atmosphériques sur la survie fœtale.

L'étude de la croissance intra-utérine se fait le plus souvent par la mesure du poids et des mensurations à la

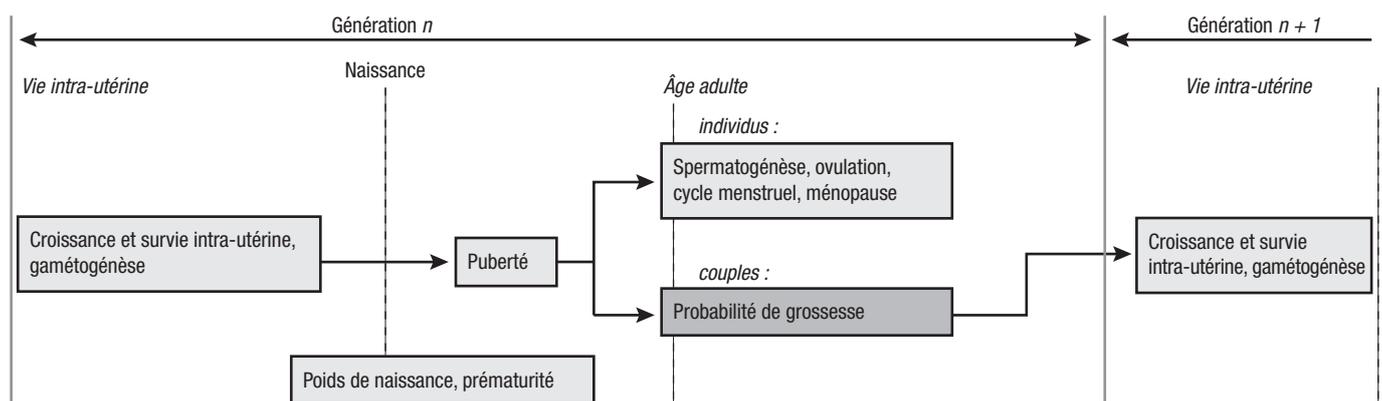
naissance, elle nécessite de prendre en compte la durée de gestation, ce qui peut être fait en se restreignant aux naissances à terme (voir l'exemple de l'étude californienne de Parker et coll. [12]), en étudiant le poids de naissance ajusté sur la durée de gestation ou en identifiant les nouveau-nés hypotrophes, c'est-à-dire ceux ayant un poids de naissance faible par rapport à l'ensemble des enfants ayant eu la même durée de gestation. La durée de gestation peut être bien sûr aussi étudiée pour elle-même [13-14], d'autant que c'est un très fort marqueur de l'état de santé de l'enfant dans la période périnatale ; nous en verrons un exemple avec l'analyse par séries temporelles de données de Pennsylvanie par Sagiv et ses collaborateurs [14].

L'étude de la survenue d'anomalies congénitales nécessite, dans le contexte où les techniques de diagnostic prénatal sont largement répandues, de chercher à prendre en compte, en plus des anomalies

détectées à la naissance, les interruptions de grossesse réalisées à la suite de la détection d'une malformation fœtale. Deux études américaines ont abordé la question [15,16], et le commentaire réalisé sur l'étude de Gilboa [15] illustre bien les enjeux méthodologiques que pose ce type d'études : outre la difficulté d'inclure les avortements thérapeutiques, la réalisation de comparaisons multiples du fait du nombre important de malformations possibles, la classification des cas présentant des malformations multiples...

Le cycle de la fonction de reproduction (figure 1) reprend à la nouvelle génération. Tout un pan de la problématique actuelle de l'étude des effets de l'environnement sur la santé reproductive concerne les effets transgénérationnels, c'est-à-dire les effets sur la reproduction des expositions subies avant la conception, donc par la ou les générations précédentes.

Figure 1 : Les différentes étapes de la fonction de reproduction



Nous allons maintenant passer en revue deux étapes de la fonction de reproduction pour lesquelles la littérature sur les effets de la pollution de l'air commence à s'étoffer : la spermatogénèse et, surtout, la prématurité et la croissance intra-utérine.

Pollution de l'air et poids de naissance

C'est pour la prématurité et la croissance intra-utérine que les travaux sur les effets de la pollution atmosphérique sont les plus avancés et les plus variés méthodologiquement. Schématiquement, les premiers travaux sur la question reposaient sur les données de certificats de naissance ; dans ce type d'approche, l'exposition de la femme enceinte aux polluants de l'air est estimée à partir de son adresse à la naissance de l'enfant, en prenant en compte les données de la station de fond la plus proche. Dans la mesure où il n'y a pas d'interrogatoire spécifique, cette approche permet d'inclure un grand nombre d'enfants (de l'ordre de la dizaine de milliers), mais a d'importantes limites en

termes de facteurs de confusion pouvant être pris en compte (tabac...,) et de mesure de l'exposition : les déménagements, assez fréquents en cours de grossesse (peut-être de 10 à 20 % des couples, d'après des études de cohortes européennes en cours), ne sont pas pris en compte, pas plus que le budget espace-temps de la femme enceinte. Une équipe pionnière dans ce domaine, celle de Beate Ritz et Michelle Wilhelm de l'université de Californie Los Angeles, a utilisé cette approche dès la fin des années 1990 [17]. Un exemple récent de cette approche auprès de 18 000 nouveau-nés californiens est donné ici [12], il présente notamment l'intérêt de s'intéresser aux particules fines (PM_{2,5}).

Dans les cinq dernières années, des cohortes de femmes enceintes ont été constituées. Si les effectifs sont, naturellement, bien plus faibles (pour l'instant, quelques centaines de femmes), ces cohortes permettent de prendre en compte davantage de facteurs de confusion pertinents, et surtout d'obtenir une mesure individuelle de l'exposition. Une cohorte réalisée en Pologne auprès de 360 femmes ayant porté un dosimètre à PM_{2,5} durant

48 heures est présentée ici [18]. Des études spécifiques sont encore nécessaires pour comparer les mérites respectifs d'une mesure individuelle unique intégrant l'ensemble des lieux et situations d'exposition durant quelques jours et ceux d'une estimation semi-individuelle au domicile chaque jour de la grossesse à partir des stations de fond.

Dans l'ensemble, la littérature présente donc une grande variété d'études, tant sur le point de la mesure de l'exposition (mesure écologique, semi-individuelle, individuelle avec dosimètre, ou modélisation -encore élémentaire, ainsi que le précise le commentaire- de la pollution due au trafic, comme pour l'étude de Wilhelm et Ritz [19]), que de l'événement de santé (prématurité, poids de naissance moyen à terme, risque de petit poids de naissance à terme, hypotrophie...) et de la méthodologie d'enquête (cohortes de femmes enceintes, voire séries temporelles).

Cette variété d'approches rend une synthèse des résultats délicate. Si on se centre sur l'effet de l'exposition aux $PM_{2,5}$ sur le poids de naissance à terme, la cohorte réalisée en Pologne aboutit à une estimation d'une diminution de 140 g dans le poids de naissance quand le niveau de $PM_{2,5}$ augmente de 10 à 50 $\mu g/m^3$ [18], ce qui, en supposant la relation linéaire, correspondrait à une diminution de 35 g pour une augmentation de 10 $\mu g/m^3$ de la concentration de $PM_{2,5}$. Les résultats de l'étude basée sur le registre de naissances californien [12] correspondent à une diminution de 29,3 g dans le poids de naissance moyen à terme pour une augmentation de 10 $\mu g/m^3$ dans la concentration de $PM_{2,5}$, (intervalle de confiance à 95 % : 16-42 g), tout à fait compatible avec l'estimation issue de la cohorte, même si la comparaison doit être faite avec prudence vu la différence de niveaux d'exposition entre la Pologne et la Californie. Pour les particules de plus grande taille (particules d'un diamètre aérodynamique inférieur à 10 μm , ou PM_{10}), les effets rapportés sont généralement plus faibles et correspondent à une diminution allant, selon les études, de 1 à 10 g du poids de naissance moyen pour une augmentation de la concentration en particules de 10 $\mu g/m^3$ [3].

Parmi les autres polluants considérés, le monoxyde de carbone a été décrit de façon assez consistante entre les différentes études comme associé au poids de naissance [4]. A partir d'une cohorte américaine avec mesure individuelle de l'exposition, un effet possible des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur le poids de naissance a aussi été décrit [6,20].

La question de savoir s'il existe une période de susceptibilité particulière durant la grossesse n'a pas été clairement tranchée [17,21]. L'adresse considérée étant celle au moment de la naissance, les déménagements en cours de grossesse ne sont pas, en général, pris en compte, les biais de mesure sur l'exposition sont donc susceptibles d'être plus importants pour l'estimation de l'exposition en début de grossesse

qu'en fin de grossesse : ces biais de classement sur l'exposition pourraient expliquer l'absence de concordance entre les fenêtres d'exposition considérées les plus "sensibles" par différentes études.

Les études sur le risque de naissance prématurée (avant 37 semaines de gestation) sont encore peu nombreuses et indiquent un effet possible des particules en suspension sur le risque de naissance prématurée [4], qui n'est pas retrouvé dans la petite cohorte polonaise avec mesure individuelle de l'exposition [18] dans laquelle la durée de gestation est analysée de façon continue. La possibilité d'un effet de la pollution atmosphérique sur la prématurité pose la question de la pertinence de l'ajustement (ou de la stratification) sur la durée de gestation dans l'analyse des effets de la pollution atmosphérique sur la croissance intra-utérine : dans la mesure où la prématurité pourrait être une conséquence de l'exposition aux polluants de l'air, il n'est peut-être pas pertinent de la prendre en compte comme un facteur de confusion dans l'estimation de l'effet de la pollution de l'air sur la croissance intra-utérine.

Mécanismes biologiques possibles

Les limites des études reposant sur les registres de naissance incitent à être prudent vis-à-vis des associations rapportées entre pollution de l'air et poids de naissance. C'est, nous l'avons vu, pour les $PM_{2,5}$, le CO et les hydrocarbures aromatiques polycycliques qu'un effet sur le poids de naissance a été décrit de la façon la plus convaincante. Le mécanisme biologique qui sous tendrait un tel effet n'en est pas pour autant établi. Une des difficultés, générale à la problématique des effets de la pollution de l'air, est qu'une association entre un polluant spécifique et le poids de naissance peut très bien être due à un ou d'autres polluants dont le niveau est corrélé à celui qui a été pris en compte. L'effet des PM_{10} rapporté dans certaines études pourrait, par exemple, être dû à la corrélation des niveaux de PM_{10} avec les niveaux de particules de plus faible diamètre qui pénètrent plus profondément dans les poumons et qui pourraient, elles, affecter la croissance intra-utérine. Et cet effet des particules de faible diamètre pourrait être expliqué par la présence de composés tels que ceux de la famille des HAP qu'elles véhiculent. Les études prenant en compte uniquement les PM_{10} , plus fréquemment mesurées que les $PM_{2,5}$ ou les HAP, seraient alors intrinsèquement limitées dans leur puissance, indépendamment de tout biais de classement sur l'exposition.

D'une façon générale, le fait qu'un type de pollution de l'air bien particulier, le tabagisme passif, influence le poids de naissance [22] fournit une validation du principe d'un effet de polluants de l'air sur le développement du fœtus. Plus spécifiquement, on sait que certains polluants de l'air, ou leurs métabolites, peuvent passer des alvéoles pulmonaires aux capillaires sanguins, puis franchir la barrière hématoplacentaire. Le monoxyde de carbone, par

exemple, forme dans le sang maternel le complexe carboxyhémoglobine qui limite la quantité d'oxygène complexée avec l'hémoglobine et que l'on retrouve dans le sang fœtal où il est plus stable que dans le sang maternel. L'oxygénation du fœtus, et peut-être sa croissance, pourrait ainsi être altérée. La concentration en HAP dans l'air est corrélée à la présence d'adduits entre les HAP et l'ADN fœtal prélevé à partir du sang du cordon [23] ; cette exposition fœtale aux composés de la famille des HAP, ou à leurs métabolites, pourrait influencer le poids de naissance par des mécanismes de mutagénicité. Les particules de faible diamètre aérodynamique (2,5 µm ou moins), enfin, pénètrent profondément dans le système respiratoire et entraînent une augmentation de la viscosité plasmatique [24] ; ceci pourrait limiter les échanges sanguins materno-placentaires et ralentir la croissance intra-utérine.

Pollution de l'air et spermatogénèse

Les études sur les caractéristiques spermatiques posent un défi majeur lié au faible taux de participation dans les études impliquant un recueil de sperme. Ce taux est en général de l'ordre de 10 à 30 %, ce qui ouvre la porte à des biais de sélection importants [9,25]. Les études sur les candidats au don de sperme posent la même question, dans la mesure où les candidats sont auto-sélectionnés, en plus d'être éventuellement sélectionnés sur leur niveau de fertilité. Dans ce contexte, une approche intéressante consiste à recueillir plusieurs échantillons de sperme par homme, et à étudier l'influence -à court terme- des variations temporelles de l'exposition sur les caractéristiques spermatiques au niveau individuel ; le fait de prendre chaque homme, comme son propre témoin, permet de limiter l'influence des biais de sélection ou de caractéristiques non mesurées et ne variant pas au cours du temps (par exemple génétiques). Cette approche commence à être utilisée pour caractériser l'influence de la pollution atmosphérique sur certaines caractéristiques spermatiques [26,27]. Les deux études reposant sur cette approche vont toutes les deux dans le sens d'un effet possible de certains polluants de l'air sur des caractéristiques spermatiques, mais sont limitées du point de vue de la mesure de l'exposition. Les études transversales sont en principe plus sensibles aux biais de sélection ; l'étude réalisée en Italie par De Rosa et collaborateurs [28], discutée plus loin, présente l'intérêt d'utiliser un biomarqueur pour estimer l'exposition aux polluants atmosphériques. Elle concerne une population de travailleurs situés sur un péage autoroutier, aussi exposés à des métaux lourds (plomb notamment),

connus par ailleurs pour influencer certaines caractéristiques spermatiques.

Les caractéristiques spermatiques étudiées ne sont pas seulement les paramètres "classiques" de concentration, morphologie ou mobilité, qui sont associées à la probabilité de grossesse [29], mais aussi des caractéristiques du noyau des spermatozoïdes telles que l'intégrité de l'ADN spermatique [26,28] ou le taux d'aneuploïdie des spermatozoïdes. Ces caractéristiques, en plus d'être associées à la probabilité de grossesse [30], pourraient être prédictives du bon déroulement du développement embryonnaire [31], voire de la survenue d'anomalies chromosomiques ou génétiques dans la descendance.

Des effets sur plusieurs générations ?

Cela soulève la question d'un effet possible des polluants de l'air sur plusieurs générations. Jusqu'ici, les caractéristiques de l'enfant ont principalement été mises en relation avec les expositions subies durant sa vie intra-utérine. L'influence des expositions maternelles durant la période préconceptionnelle (délicates à étudier, car vraisemblablement assez corrélées avec les expositions en début de grossesse) et l'influence des expositions paternelles durant la période précédant la conception (qui peuvent aussi être corrélées à celles de la mère) n'ont pas été caractérisées. Chez l'animal, toutefois, une expérience réalisée sur des souris dont la cage a été déposée à proximité d'une autoroute ou d'aciéries a montré que la réduction de l'exposition aux particules en suspension grâce à l'utilisation d'un filtre à particules entraînait une diminution du taux de mutations dans la descendance [32]. Les résultats indiquaient donc que les particules en suspension peuvent induire chez l'animal des mutations génétiques transmises à la descendance ; cet effet était en particulier observé pour les mutations d'origine paternelle [32]. Ce travail soulève donc d'importantes questions de recherche autour des effets transgénérationnels des polluants de l'air, qui n'ont pas encore été abordées chez l'homme et nous donne la mesure du chemin restant à parcourir pour caractériser l'influence de la pollution de l'air sur l'ensemble de la fonction de reproduction. Le défi scientifique posé par ces incertitudes ne doit pas occulter le défi de santé publique que constitue l'émergence d'éléments concordants indiquant que l'exposition des femmes enceintes aux polluants de l'air aux niveaux rencontrés aujourd'hui dans les pays industrialisés pourrait influencer la croissance intra-utérine de leur enfant.

Remerciements :

Je remercie Jean Bouyer et Béatrice Ducot pour leurs commentaires sur des versions antérieures de ce texte.

Références

- [1] Williams L, Spence A, Tideman SC. Implications of the observed effects of air pollution on birth weight. *Soc Biol* 1977;24(1): 1-9.
- [2] Syntaxe de la recherche: [Air pollution AND (reproduction OR pregnancy)] NOT tobacco, avec "human" comme limite.
- [3] Glinianaia SV, Rankin J, Bell R, Pless-Mulloli T, Howel D. Particulate air pollution and fetal health: a systematic review of the epidemiologic evidence. *Epidemiology* 2004;15(1):36-45.
- [4] Sram RJ, Binková. Ambient air pollution and pregnancy outcomes: a review of the literature. *Environ Health Perspect* 2005.
- [5] Maisonet M, Correa A, Misra D, Jaakkola JJ. A review of the literature on the effects of ambient air pollution on fetal growth. *Environ Res* 2004;95(1):106-15.
- [6] Perera FP, Rauh V, Whyatt RM, Tang D, Tsai WY, Bernert JT, Tu YH, Andrews H, Barr DB, Camann DE, Diaz D, Dietrich J, Reyes A, Kinney PL. A summary of recent findings on birth outcomes and developmental effects of prenatal ETS, PAH, and pesticide exposures. *Neurotoxicology* 2005;26(4):573-87.
- [7] Glinianaia SV, Rankin J, Bell R, Pless-Mulloli T, Howel D. Does particulate air pollution contribute to infant death? A systematic review. *Environ Health Perspect* 2004;112(14):1365-71.
- [8] Savitz DA, Hertz-Picciotto I, Poole C, Olshan AF. Epidemiologic measures of the course and outcome of pregnancy. *Epidemiol Rev* 2002;24(2):91-101.
- [9] Slama R, Bouyer J, Remontet L, Spira A. Epidemiology of male reproductive function: a field searching for tools. *Rev Epidemiol Sante Publique* 2004;52(3):221-242.
- [10] Dejmek J, Jelinek R, Solansky I, Benes I, Sram RJ. Fecundability and parental exposure to ambient sulfur dioxide. *Environ Health Perspect* 2000;108(7):647-654.
- [11] Pereira LA, Loomis D, Conceicao GM, Braga AL, Arcas RM, Kishi HS, Singer JM, Bohm GM, Saldiva PH. Association between air pollution and intrauterine mortality in São Paulo, Brazil. *Environ Health Perspect* 1998;106(6):325-9.
- [12] Parker JD, Woodruff TJ, Basu R, Schoendorf KC. Air pollution and birth weight among term infants in California. *Pediatrics* 2005;115(1):121-8.
- [13] Ritz B, Yu F, Chapa G, Fruin S. Effect of air pollution on preterm birth among children born in Southern California between 1989 and 1993. *Epidemiology* 2000;11(5):502-11.
- [14] Sagiv SK, Mendola P, Loomis D, Herring AH, Neas LM, Savitz DA, Poole C. A time-series analysis of air pollution and preterm birth in Pennsylvania, 1997-2001. *Environ Health Perspect* 2005;113(5):602-6.
- [15] Gilboa SM, Mendola P, Olshan AF, Langlois PH, Savitz DA, Loomis D, Herring AH, Fixler DE. Relation between ambient air quality and selected birth defects, seven county study, Texas, 1997-2000. *Am J Epidemiol* 2005;162(3):238-52.
- [16] Ritz B, Yu F, Fruin S, Chapa G, Shaw GM, Harris JA. Ambient air pollution and risk of birth defects in Southern California. *Am J Epidemiol* 2002;155(1):17-25.
- [17] Ritz B, Yu F. The effect of ambient carbon monoxide on low birth weight among children born in southern California between 1989 and 1993. *Environ Health Perspect* 1999;107(1):17-25.
- [18] Jedrychowski W, Bendkowska I, Flak E, Penar A, Jacek R, Kaim I, Spengler JD, Camann D, Perera FP. Estimated risk for altered fetal growth resulting from exposure to fine particles during pregnancy: an epidemiologic prospective cohort study in Poland. *Environ Health Perspect* 2004;112(14):1398-402.
- [19] Wilhelm M, Ritz B. Residential proximity to traffic and adverse birth outcomes in Los Angeles county, California, 1994-1996. *Environ Health Perspect* 2003;111(2):207-16.
- [20] Perera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, Bernert T, Garfinkel R, Tu YH, Diaz D, Dietrich J, Whyatt RM. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environ Health Perspect* 2003;111(2):201-5.
- [21] Lee BE, Ha EH, Park HS, Kim YJ, Hong YC, Kim H, Lee JT. Exposure to air pollution during different gestational phases contributes to risks of low birth weight. *Hum Reprod* 2003;18(3):638-43.
- [22] Kharrazi M, DeLorenze GN, Kaufman FL, Eskenazi B, Bernert JT, Jr., Graham S, Pearl M, Pirkle J. Environmental tobacco smoke and pregnancy outcome. *Epidemiology* 2004;15(6):660-70.

- [23] Whyatt RM, Santella RM, Jedrychowski W, Garte SJ, Bell DA, Ottman R, Gladek-Yarborough A, Cosma G, Young TL, Cooper TB, Randall MC, Manchester DK, Perera FP. Relationship between ambient air pollution and DNA damage in Polish mothers and newborns. *Environ Health Perspect* 1998;106 Suppl 3:821-6.
- [24] Peters A, Doring A, Wichmann HE, Koenig W. Increased plasma viscosity during an air pollution episode: a link to mortality? *Lancet* 1997;349(9065):1582-7.
- [25] Muller A, De La Rochebrochard E, Labbe-Decleves C, Jouannet P, Bujan L, Mieusset R, Le Lannou D, Guerin JF, Benchaib M, Slama R, Spira A. Selection bias in semen studies due to self-selection of volunteers. *Hum Reprod* 2004;19(12):2838-44.
- [26] Rubes J, Selevan SG, Evenson DP, Zudova D, Vozdova M, Zudova Z, Robbins WA, Perreault SD. Episodic air pollution is associated with increased DNA fragmentation in human sperm without other changes in semen quality. *Hum Reprod* 2005;20(10):2776-2783.
- [27] Sokol RZ, Kraft P, Fowler IM, Mamet R, Kim E, Berhane KT. Exposure to environmental ozone alters semen quality. *Environ Health Perspect* 2006;114(3):360-5.
- [28] Rosa MD, Zarrilli S, Paesano L, Carbone U, Boggia B, Petretta M, Maisto A, Cimmino F, Puca G, Colao A, Lombardi G. Traffic pollutants affect fertility in men. *Hum Reprod* 2003;18(5):1055-61.
- [29] Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjollund NH, Kolstad H, Henriksen TB, Scheike T, Giwercman A, Olsen J, Skakkebaek NE. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *Lancet* 1998;352(9135):1172-7.
- [30] Benchaib M, Braun V, Lornage J, Hadj S, Salle B, Lejeune H, Guerin JF. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod* 2003;18(5):1023-8.
- [31] Zini A, Meriano J, Kader K, Jarvi K, Laskin CA, Cadesky K. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. *Hum Reprod* 2005;20(12):3476-80.
- [32] Somers CM, McCarry BE, Malek F, Quinn JS. Reduction of particulate air pollution lowers the risk of heritable mutations in mice. *Science* 2004;304(5673):1008-10.