

## · 综述 ·

## 有机磷农药的雄性生殖毒性研究进展

李相鑫, 赛林霖, 刘毅\*

(山东省职业卫生与职业病防治研究院, 山东 济南 250062)

**摘要:** 有机磷农药的广泛应用及其残留性对环境 and 人类健康造成了严重的威胁。近年来, 有机磷农药的生殖毒性及其机制的研究成为环境医学领域关注的热点。本文从动物实验研究和人群研究两个方面, 综述了有机磷农药对雄性生殖系统的毒性作用, 并探讨其产生生殖毒性的可能机制。

**关键词:** 有机磷农药; 生殖毒性; 雄性

中图分类号: R595.4 R979.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2010)03-0196-03

Research progress on male reproductive toxicity induced by organophosphorus pesticides

LIXiangxin SAILinlin LIUYi

(Shandong Provincial Institute of Occupational Health and Occupational Diseases Control, Jinan 250062, China)

**Abstract:** The wide use and the residual character of organophosphorus pesticides caused a serious threat on environment and human health. In recent years, the male reproductive toxicity and its mechanisms induced by organophosphorus pesticides were become the study focus too in the field of environmental medicine. In this paper, the findings of experimental study and epidemiological investigation on these topics were well reviewed.

**Key words:** organophosphorus pesticide; reproductive toxicity; male

有机磷化合物作为杀虫剂开发应用已历经半个多世纪, 由于其具有经济、高效、杀虫谱广等特点, 至今仍被广泛地应用于农业生产, 且使用量日益增加。它的普遍使用有效地防治了病虫害对农作物的危害, 然而, 也给人类和环境带来了不利影响。随着有机磷农药的广泛应用, 其在环境和蔬菜水果等食物中的残留现象已较为普遍<sup>[1]</sup>。而长期接触或食用低剂量有机磷农药残留物对人类健康的影响, 已受到国内外学者的广泛关注。尤其是近年来, 有机磷农药对生殖功能的影响引起了广泛的重视。本文就近年来有机磷农药对雄性生殖系统毒性的研究现状及进展作一简单综述。

## 1 动物实验研究

### 1.1 对生殖细胞的毒性作用及机制

雄性生殖系统的主要功能是产生精子, 使之成功地与卵子结合, 这就要求正常的精子具有足够的数量、适当的运动能力和受精能力。一般说来, 长期小剂量接触有害物质对不稳定细胞的损害较为明显。男性生殖细胞属于不稳定细胞, 生精细胞在进行增殖分裂过程中最有可能受到微量农药蓄积作用的危害而影响精子的数量和质量。

K Narayana等以 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、1.5 mg/kg 剂量的甲基对硫磷对大鼠染毒, 结果显示, 精子异常发生率显著增加, 精子数量减少, 且数量的减少与甲基对硫磷呈剂量反应关系。精子形态异常主要体现在头部和尾部异常, 作者认为诱发的精子异常与生殖细胞点突变有关, 点突变引起参与

精子头部和尾部形成的细胞器结构改变, 从而导致精子形态异常。精子的减少可能是因为有机磷穿过血睾屏障, 诱发氧化应激和脂质过氧化从而损害睾丸生物膜继而损害生精和间质细胞, 干扰精子发生减少精子数量。作者同时测定了抗坏血酸, 发现抗坏血酸含量减少。抗坏血酸具有亲水性, 能够清除水相中的自由基, 保护生物膜免受氧化损伤。睾丸中抗坏血酸的减少, 导致生物膜氧化损伤, 从而损害了精子发生过程, 使精子数量减少, 异常形态精子增加<sup>[2]</sup>。还有研究结果显示, 有机磷农药可导致精原细胞和圆形精子出现空泡核, 一些精子出现奇异的胞浆包涵体<sup>[3]</sup>, 还可观察到一些精子核出现晕外观, 核致密, 核固缩, 出现多核巨细胞, 以及减少生殖细胞的均质性, 减少生殖细胞增殖和分裂指数<sup>[4]</sup>。作者推测多核巨细胞的形成可能是由于生殖细胞的退化和细胞间桥的扩大。

至于有机磷农药对精子活力的影响, Miguel Betancour等利用计算机辅助精液分析仪测试了马拉硫磷对猪精子的损伤。结果显示精子的运动参数平均速度、线速度、曲线速度等降低, 精子的向前运动能力下降明显<sup>[5]</sup>。Ai Okamura等将敌敌畏以 1 mg/kg、2 mg/kg、4 mg/kg 对 Wistar 大鼠染毒 9 周, 结果显示 3 个染毒剂量组均可以不同程度地降低附睾尾精子活力。作者分析精子活力下降的原因可能是附睾尾精子中胞浆小滴的残留而影响了精子的运动能力, 也有可能是因为敌敌畏导致线粒体酶的活性降低, 从而抑制了能量的产生而降低了精子的活力<sup>[6]</sup>。

有机磷农药对生殖细胞的毒性作用同样还体现在其对精子染色体结构的影响。据报道有机磷农药能够增加 DNA 碎片指数、增加 DNA 色素酶 A<sub>3</sub> 的嵌入率、诱发核鱼精蛋白和精

收稿日期: 2009-12-28 修回日期: 2010-03-22

作者简介: 李相鑫(1983-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 毒理学。

\*: 通讯作者, 研究员, 硕士研究生导师, E-mail: ly6161

子头部磷酸化水平增加。DNA色素酶  $A_3$  与鱼精蛋白竞争, 使鱼精蛋白与 DNA 的结合减少, 导致染色质固缩。而核鱼精蛋白的磷酸化是精子细胞分化过程中的最后一个敏感阶段, 其水平增加参与了精子染色质的固缩和 DNA 结构完整性的改变<sup>[7]</sup>。还有研究结果显示有机磷农药致使 DNA 链发生断裂, 通常情况下 DNA 由于其紧密的结构可以对抗外来物的损伤, 而在精子发生和染色体固缩时期, 组蛋白被鱼精蛋白取代, 二硫键形成。这时由于 DNA 缺少修复和抗氧化酶损伤等防御能力, 后期精母细胞和早期精子核鱼精蛋白发生烷基化导致 DNA 断裂<sup>[8]</sup>。

### 1.2 对生殖器官的毒性作用及机制

目前的研究显示, 有机磷农药对雄性生殖器官的毒性作用主要体现在: (1) 睾丸以及附属生殖器官重量减轻。附睾和前列腺是雄激素依赖器官, 其重量的减轻是因为有机磷农药结合于雄激素受体, 使其利用睾酮的能力下降<sup>[9-10]</sup>。有研究结果显示, 体重未变的情况下睾丸重量减轻, 说明不是营养的问题而可能是睾丸内生殖细胞减少造成的<sup>[11]</sup>。(2) 生精上皮高度降低, 曲细精管脱落坏死、萎缩、形状扭曲、直径缩小。研究者认为脱落是由于有机磷农药对支持细胞微管和中间丝的影响, 直径缩小是因为水肿的发生<sup>[14-13]</sup>。(3) 睾丸萎缩、损伤、退化。睾丸损伤可能是由于睾丸膜脂质过氧化, 产生大量的自由基引起的, 这从睾丸组织总脂肪的消耗和脂质过氧化物的产生可以看出<sup>[13]</sup>。(4) 间质水肿, 部分原因可能是有机磷穿过血睾屏障, 诱发氧化应激和脂质过氧化从而损害睾丸生物膜进而损害间质细胞间质空隙扩大, 也可能是因为水肿液和肾小管的萎缩<sup>[12]</sup>。

### 1.3 对雄性生育力的影响

关于有机磷农药对雄性生育力的毒性作用, 已陆续有人报道。Amina T 等用乐果对雄性大鼠染毒, 然后与雌鼠交配, 结果显示雄性交配指数、生育指数均减低, 着床数和活胎数减少<sup>[14]</sup>。Ferdinand Ngoula 等用甲硫磷染毒也得出了相似的结果<sup>[15]</sup>。研究者分析可能是由于睾酮激素水平降低而影响了性欲, 也可能是因为精囊和前列腺受到了损伤。其他的研究结果还显示, 对大鼠染毒有机磷农药后与雌鼠交配可造成宫内发育迟缓、雄雌性别比例降低、胎儿畸形、子代存活率较低<sup>[16]</sup>。此外, De Silva 等向养有雌雄孔雀鱼的鱼缸中连续 3 d 投入  $0.2 \mu\text{g}/\text{m}$  毒死蜱, 研究其对孔雀鱼生殖行为的影响, 结果显示, 雄性性欲减低, 产子数也明显减少, 子代存活率下降<sup>[17]</sup>。正常情况下, 雌性分泌一种化学激素, 刺激雄性产生精子和交配行为, 但是农药干扰了雄性对这种化学物的反应, 使其性欲减低。

### 1.4 对内分泌的影响及作用机制

随着研究的深入, 近年来有关有机磷农药对雄性内分泌影响的报道日渐增多, 尤其是其对睾酮水平变化的影响。睾酮对于精子发生、维持雄性特征、生育能力有至关重要的作用。睾酮的产生主要受下丘脑分泌的 GnRH (促性腺激素释放素) 和支持细胞分泌的雌二醇和 GnRH 的调节。GnRH 刺激垂体产生 LH (促黄体生成素), LH 作用于间质细胞刺激睾酮产

生<sup>[18]</sup>。有研究结果显示有机磷农药能够导致血浆睾酮水平降低<sup>[19]</sup>, 同时降低 FSH (促卵泡生成激素)、LH 的含量<sup>[11-19-20]</sup>。研究者认为睾酮水平降低可能是多种途径共同作用的结果: (1) 睾丸间质细胞的甾体产生受到严重的损害; (2) 抑制了下丘脑和垂体分泌促性腺激素的功能, 继而影响睾酮合成; (3) 胆固醇向雄激素转化受限于胆固醇膜外向膜内的转运, 而转运受控于 SAR (类固醇生成急性调控蛋白) 的调节, 有机磷农药引起氧化损伤, 增加脂质过氧化物, 提高环氧酶-2 的活性, 从而减少 SAR 转录和翻译, 抑制甾类激素的合成继而减少血清睾酮水平。虽然大部分研究结果显示, 有机磷可以降低血清睾酮的浓度, 但也有许多研究结果得出相反的结论<sup>[3-5]</sup>。睾酮水平增加的机制可能是: (1) 由于有机磷农药干扰了睾酮与雄激素受体的结合或者干扰其分解; (2) 垂体前叶的雄激素反馈机制受到压制, 继而增加了 LH 的分泌, 刺激睾丸间质细胞释放大量的睾丸激素; (3) 有机磷直接作用于睾丸间质细胞刺激睾酮合成。尽管有机磷农药对睾酮作用的具体机制还有待进一步阐明, 但可以证实其干扰了睾酮的分泌。

## 2 人群研究

近年来的研究结果证明, 喷洒农药的农民体内存在有机磷农药残留, 并且有机磷农药的残留量与男性精液量、精子活力、精子总数呈负相关<sup>[21]</sup>, 精液液化时间长, 正常精子形态比率较低, 精液中锌浓度低于正常, 睾酮和 LH 含量降低, 精液 pH 升高<sup>[21]</sup>。表明有机磷农药不仅影响了精液的质量还干扰了雄性激素的分泌, 可能是由于有机磷农药对睾丸损伤后引起的继发性激素紊乱所致。研究结果还显示精子质量有季节依赖性, 在喷洒农药较多的夏秋季节精子质量下降明显, 而冬天有所改善, 充分表明低精液质量和有机磷暴露有关<sup>[23]</sup>。进一步研究还显示有机磷农药的残留还可导致男性精子染色质结构的改变, 损害 DNA 完整性, DNA 碎片指数增加<sup>[24]</sup>, DNA 位于精子尾部的比率增加<sup>[25]</sup>。染色体异常可能是化合物导致 DNA 与 DNA 或 DNA 与蛋白质的交联而增加了染色体不分离的几率, 也可能是干扰了染色体重组, 或者是在细胞分离过程中着丝粒和微管的混乱。N R rez Herrera 等在墨西哥农民中评价了 PON1Q192R 基因多态性与有机磷暴露导致精液质量下降和 DNA 完整性改变的关系, 发现具有 192RR 基因型的男性对有机磷农药的有害作用更具有易感性<sup>[26]</sup>。国内的研究也得出了相似的结果, 邹晓平等对农村施药者的研究显示, 精子密度、非前向运动率及精子存活率下降明显<sup>[27]</sup>。

## 3 结语

综上所述, 有机磷农药对雄性生殖系统的毒性主要表现在对生殖器官及生殖细胞的损伤, 对内分泌的干扰, 对生育能力的影响。其毒性作用的可能机制: 氧化应激和脂质过氧化、干扰神经中枢、DNA 和蛋白质损伤、酶抑制、干扰激素功能等。

有关有机磷农药的雄性生殖系统毒理学研究, 目前的研究方法有生殖流行病学研究、整体动物实验、睾丸毒性的组织病理学研究、睾丸细胞体外培养、精子动力学分析等。虽

然有一部分人群研究的资料,但主要还是限于动物实验。由于种属间生殖功能及农药在体内生物转化的差异,致使动物实验结果外推到人会有很大误差。因此,应在动物实验研究的基础上进一步开展人群研究。

有机磷农药对雄性生殖系统的毒性作用是一个多途径且十分复杂的过程,低剂量长期接触有机磷农药对雄性生殖系统的毒性效应及其机制研究报道更为少见。因此为阐明低剂量有机磷农药对雄性生殖系统的毒作用机制,筛选早期有机磷生殖毒性检测的生物标志物,找到有效的方法来预防、减轻和逆转有机磷农药对雄性生殖系统的损伤,保护人类的健康,应进一步加强此方面的研究。

#### 参考文献:

- [1] 郭帅,邵丽华,李静涛,等.蔬菜中有机磷农药残留情况的调查[J].环境与健康杂志,2008,25(9):803-806
- [2] K Narayana. Methyl Parathion induces the formation of symplasts by round spermatid fusion and alters the biochemical parameters in the testis [J]. *Morphology* 2007, 91(4): 173-179.
- [3] Gihan Gama Mousa, Zein Shaaban Ibrahim, Yoshihisa Hashimoto et al. Testicular toxicity of profenofos in matured male rats [J]. *Arch Toxicol* 2007, 81(12): 875-881.
- [4] Kijarkajee Narayana, Narayan Prashanthi, Arun Kumar Nayana et al. An organophosphate insecticide methyl parathion induces cytotoxic damage and tubular atrophy in the testis despite elevated testosterone level in the rat [J]. *The Journal of Toxicological Sciences* 2006, 31(3): 177-189.
- [5] M Juel Beaucourt, Alicia Resendiz, Eduardo Casasy Reyna Fierro. Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) in vitro [J]. *Reproductive Toxicology* 2006, 22(3): 508-512.
- [6] Ai Okamura, Michihito Kamijima, Eiji Shiba et al. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats [J]. *Toxicology* 2005, 213(1-2): 129-137.
- [7] B Pina Guzman, M J Solis Heredia, B Quinlanilla Vega, Daznon alters sperm chromatin structure in mice by phosphorylating nuclear proteins [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2005, 202: 189-198.
- [8] Elsa Salazar Arredondo, Maria de Jesus Solis Heredia, Elizabeth Rojas Garcia et al. Sperm chromatin alteration and DNA damage by methyl parathion, chlorpyrifos and diazinon and their oxon metabolites in human spermatozoa [J]. *Reproductive Toxicology* 2008, 25(4): 455-460.
- [9] Ram Bahadur Kuwar, Chandia Bhushan Jha, Ajit Kumar Saxena et al. Effect of phosphamidon on the testes of albino rats: a histological study [J]. *Nepal Med Coll J* 2006, 8(4): 224-226.
- [10] N Prashanthi, K Narayana, A Nayana et al. The reproductive toxicity of the organophosphate pesticide *o*-dimethyl *o*-4-nitrophenyl phosphorothioate (methyl parathion) in the male rat [J]. *Folia Morphol* 2006, 65(4): 309-321.
- [11] Saumen Kumar Majtra, Anindita Mitra. Testicular functions and serum titres of LH and testosterone in methyl parathion fed roseringed parakeets [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2008, 71(10): 236-244.
- [12] Ferah Sisman. Histopathological effects of dimethoate on testes of rats [J]. *Bull Environ Contam Toxicol* 2007, 78(6): 479-484.

- [13] Gihan G Mousa, Zein Ibrahim, Mohamed M Ahmed et al. Downregulation of male specific cytochrome P450 by profenofos [J]. *Japanese Journal of Veterinary Research* 2008, 56(2): 109-118.
- [14] Amna T Fuaq, Ahmed F El-Aswad, Nasma A Shaaban. Assessment of reproductive toxicity of orally administered technical dimethoate in male mice [J]. *Reproductive Toxicology* 2007, 23(2): 232-238.
- [15] Ferdinand Ngoula, Pierre Watcho, Marie-Chantal Dongmo et al. Effects of pirim phosphomethyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats [J]. *African Health Sciences* 2007, 7(1): 3-9.
- [16] J Gomes O L, Lloyd Z Hong. Oral exposure of male and female mice to formulations of organophosphorous pesticides: congenital malformations [J]. *Human & Experimental Toxicology* 2008, 27(3): 231-240.
- [17] IMCS De Silva, IA Samarawardhena. Effects of chlorpyrifos on reproductive performances of guinea pig [J]. *Chemosphere* 2005, 58(9): 1293-1299.
- [18] HR Contreras, V Paredes, B Urquiza et al. Testosterone production and spermatogenic damage induced by organophosphate pesticides [J]. *BioCell* 2006, 30(3): 423-429.
- [19] Fama Gökce Uzun, Suna Kalendar, Dilek Durak et al. Malathion induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E [J]. *Food and Chemical Toxicology* 2009, 47(8): 1903-1908.
- [20] Mariana Astiz, Graciela E. Huriado de Calaf, et al. Involvement of lipids in dimethoate induced inhibition of testosterone biosynthesis in rat interstitial cells [J]. *Lipids* 2009, 44(8): 703-718.
- [21] Melissa J Pery, Scott A Venner, Dana B Barr et al. Environmental pyrethroid and organophosphorus insecticide exposures and sperm concentration [J]. *Reproductive Toxicology* 2007, 23(1): 113-118.
- [22] Sandra Yucra, Manuel Gasco, Julio Rubio et al. Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters [J]. *Environmental Health* 2008, 59(7): 1-10.
- [23] Rogelio Recio-Vega, Guadalupe Ocampo-Gomez, Victor H Borja-Aburto et al. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels [J]. *J Appl Toxicol* 2008, 28(6): 674-680.
- [24] LC Sanchez-Perez, BE Reyes, L Lopez-Carrillo et al. Organophosphorus pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2004, 196(1): 108-113.
- [25] John D Meeker, Naendra P Singh, Louise Ryan et al. Urinary levels of insecticide metabolites and DNA damage in human sperm [J]. *Human Reproduction* 2004, 19(11): 2573-2580.
- [26] N Reez Heredia, H Polanco-Mina, E Salazar Arredondo et al. PON1 Q192R genetic polymorphism modifies organophosphorus pesticide effects on semen quality and DNA integrity in agricultural workers from southern Mexico [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008, 230(7): 261-268.
- [27] 邹晓平, 杨丽, 秦红, 等. 农村男性接触有机磷农药对精液质量影响的研究 [J]. *中国计划生育学杂志*, 2005, 118(8): 476-478.