

· 论 著 ·

职业性接触乙草胺农药对男工精液质量的影响

孙雪照¹, 谈立峰^{1*}, 李燕南¹, 王茜丽¹, 吉俊敏¹, 陈龙生², 陈建锋³, 王守林³

(1. 常州市疾病预防控制中心, 江苏 常州 213003; 2. 常州市卫生局, 江苏 常州 213003; 3. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 探讨乙草胺农药对男工精液质量的影响。方法 分别选择某农药厂乙草胺生产男工 24 名为暴露组、厂行政办公区男性工作人员 46 名为内对照组, 另选择某疾控中心男性工作人员 22 名为外对照组。对各组环境空气中乙草胺及其相关溶剂如甲苯、二甲苯进行连续 3 d 的监测, 同时选择暴露区及外对照区各 3 人进行连续 3 d 的个体采样, 评价暴露水平; 按统一标准收集一次性精液, 用 WHO 推荐的方法和标准对精液质量、精子的形态学进行评价, 同时应用计算机辅助精子分析 (CASA) 系统对精子的运动能力进行分析。结果 暴露组空气中乙草胺浓度明显高于内、外对照组 ($P < 0.01$), 而甲苯、二甲苯浓度差异无显著性 ($P > 0.05$), 同时个体采样结果也显示暴露组乙草胺浓度显著高于外对照组 ($P < 0.01$); 暴露组精液量、精子活动度、精子总数和精子平均路径速度 (VAP) 显著低于外对照组 ($P < 0.05$), 精液量异常率、精子活动度异常率及精子总畸形和头部畸形发生率均显著高于外对照组 ($P < 0.05$), 精液 pH 值显著低于内对照组 ($P < 0.05$); 内对照组精子活动度显著低于外对照组 ($P < 0.05$), 精液量及精子活动度异常率显著高于外对照组 ($P < 0.05$)。结论 职业性接触乙草胺对男工精液质量有一定影响。

关键词: 乙草胺; 职业暴露; 精液质量; 精子形态; 计算机辅助精子分析

中图分类号: R139.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2006)01-0001-04

Effects of acetochlor exposure on the semen quality of occupational workers

SUN Xue-zhao¹, TAN Li-feng¹, LI Yan-nan¹, WANG Qian-li¹, JI Jun-min¹, CHEN Long-sheng², CHEN Jian-feng³, WANG Shou-lin³

(1. Center for Disease Control of Changzhou, Changzhou 213003, China; 2. Changzhou Health Bureau, Changzhou 213003, China; 3. School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of acetochlor exposure on the semen quality of occupational workers. **Method** Twenty-four male workers exposed to acetochlor and 46 male administrators in the office in a pesticide factory were selected as the exposure group and internal control group, respectively, and 22 male administrators in a center for disease control were served as the external control group. In order to evaluate the exposure levels, the concentration of acetochlor, toluene and xylene in the ambient air of working place in these three groups were monitored simultaneously for three consecutive days. Moreover, three workers in the exposure group and the external control group were selected to evaluate the amount of acetochlor of individual sampling for three consecutive days. According to the standard method the semen were collected and the semen qualities were analysed with WHO method, the sperm morphology and the sperm motility were evaluated using *I²*-cell slide spectrum technology computer assisted sperm analysis (CASA). **Result** In the exposure group, the concentrations of acetochlor were significantly higher than those in the internal and external control groups ($P < 0.01$), while no significant difference in the concentration on toluene or xylene was found ($P > 0.05$). Furthermore, the concentrations of acetochlor with the individual sampling in the acetochlor exposure area were significantly higher than those in the external control area ($P < 0.01$). The seminal volume, sperm progression, sperm count and sperm motion parameters such as average path velocity (VAP) in exposed group were significantly lower than those in the external control group ($P < 0.05$), while the abnormality rates of seminal volume, sperm progression and morphology increased compared with the external control group ($P < 0.05$). Furthermore, the seminal pH in the exposure group was lower than that in the internal control group ($P < 0.05$). In addition, the sperm progression in the internal control group was significantly lower than those in the external control group ($P < 0.05$). And the abnormalities of sperm progression and seminal volume in the internal control group were significantly higher than those in the external control groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Occupational exposure to acetochlor can affect workers' semen quality, especially the seminal volume, sperm morphology and sperm movement ability.

Key words: Acetochlor; Occupational exposure; Semen quality; Sperm morphology; Computer assisted sperm analysis

收稿日期: 2004-10-25; 修回日期: 2005-01-31

基金项目: 江苏省科技厅资助项目 (No. BS2002010); 常州市科技局资助项目 (No. CL0130); 江苏省卫生厅资助项目 (No. Y2002024)

作者简介: 孙雪照 (1947-), 男, 江苏常州人, 主管医师, 从事职业卫生学研究。

* 通讯作者, Email: cztanlifeng@163.com

乙草胺是一种酰胺类除草剂, 沸点 $>200^{\circ}\text{C}$, 熔点 $>0^{\circ}\text{C}$, 蒸气压 133.3 Pa, 相对密度 1.11 (30°C), 大鼠经口 LD_{50} 为 2 148 mg/kg, 兔经皮 LD_{50} 为 794 mg/kg^[1]。近年来, 乙草胺已成为主要的除草剂品种, 年生产、使用量 5 万亿 t 以上, 接触人数众多。农药对生殖系统的危害已引起国内外学者的关注^[2], Trentacoste 等^[3]通过动物实验, 发现除草剂阿特拉津对雄性大鼠的生殖毒性主要是直接作用于中枢神经系统的下丘脑—垂体—睾丸轴, 可引起其睾丸的组织形态学变化及对精子和其运动能力的毒作用。本研究以乙草胺职业接触人群为研究对象, 通过精液质量分析, 试图了解乙草胺农药的男性生殖毒性, 为保护职工健康提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 对象

选择某农药厂工龄半年以上的乙草胺农药生产男工 24 名为暴露组, 该厂行政办公区男性工作人员 46 名为内对照组, 另选择某疾控中心男性工作人员 22 名为外对照组; 采用面对面询问的方式调查工人的工作状况及生活习惯等。

1.2 方法

1.2.1 环境暴露监测 选择某农药厂乙草胺生产车间以及行政办公区为暴露区和内对照区, 某疾控中心为外对照区, 连续 3 d 测定空气中乙草胺及其相关溶剂如甲苯、二甲苯浓度, 所有采样设备在采样前均经过统一校正; 同时选择暴露区及外对照区各 3 人进行连续 3 d 的个体采样。乙草胺用气相色谱法 (GC-14B 气相色谱仪, 日本岛津公司), 原药纯度为 94.5%; 甲苯、二甲苯经二硫化碳解析后用气相色谱法测定。

1.2.2 精液分析 按照 WHO 标准, 在禁欲 72 h 后, 采用手淫法于现场一次性采集精液样品于收集杯中, 倾斜 45° , 置于 37°C 恒温箱中液化后, 待分析; 并填写《精液采集情况表》。按照 WHO 推荐的方法, 在现场 1 h 内用 μ -cell 板测定精液的液化时间、pH 值、黏稠度、凝集度、活动度、活率、精子浓度以及一次射精精子总数等, 并参照 WHO《人类精液及精子-宫颈黏液相互作用实验室检验手册》(第三版)^[4]以及王守林等^[5]的方法评价精液的异常情况。精液在现场涂片后, 自然晾干, 用吉姆萨染色法染色。参照 WHO^[4]推荐的标准进行人精子的形态学评价。运用计算机辅助精子分析系统 (CASA, 英国 Hobson 公司, 分析软件为 HST-7V1B) 分析精子的主要运动参数: 曲线运动速度 (VCL)、平均路径速度 (VAP)、直线

运动速度 (VSL)、鞭打频率 (BCF)、前向性 (STR 即 VSL/VAP)、直线性 (LIN, 即 VSL/VCL) 和精子活率 (MOT)。

1.3 统计分析

所有数据用 EPI6.0 建立数据库, 采用 SPSS10.0 统计软件包进行统计分析, 计量资料用 One-Way ANOVA, 计数资料用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 基本情况

暴露组、内对照组、外对照组男工年龄均值分别为 27.5 岁、30.9 岁、29.5 岁, 工龄均值分别为 5.38 年、4.02 年、4.32 年, 吸烟率分别为 79.2%、54.3%、54.5%, 饮酒率分别为 12.5%、10.9%、13.6%。经统计学检验, 差异均无显著性 ($P>0.05$)。

2.2 暴露监测

暴露区车间空气中乙草胺的几何均值为 $4.57 \times 10^{-2} \text{mg/m}^3$ ($0.30 \sim 15.00 \text{mg/m}^3$), 而内、外对照区未检出; 甲苯、二甲苯各区域间较接近, 且浓度远远低于国家卫生标准 (100mg/m^3)。

随机选择 3 名工人, 连续 3 d 共采集乙草胺样品 9 份, 乙草胺的浓度范围为 $0.02 \sim 0.15 \text{mg/m}^3$, 几何均值为 0.07mg/m^3 ; 而外对照区工人均未检出乙草胺。

2.3 精液常规指标比较及精液异常率发生情况

暴露组精液量、精子活动度和精子总数均显著低于外对照组 ($P<0.05$), pH 显著低于内对照组 ($P<0.05$); 内对照组精子的活动度显著低于外对照组 ($P<0.05$); 暴露组精液量及活动度异常率均显著高于外对照组 ($P<0.05$); 另外内对照组的精液量及活动度异常率均显著高于外对照组 ($P<0.05$)。见表 1。

2.4 精子形态畸形发生率的比较

暴露组、内对照组、外对照组精子总畸形率分别为 28.10%、25.37%、23.46%; 头部畸形分别为 12.82%、11.21%、10.33%; 颈部畸形分别为 1.55%、1.62%、1.71%; 尾部畸形分别为 12.83%、11.88%、10.32%; 混合畸形分别为 0.89%、0.66%、0.85%。经统计学检验, 暴露组精子总畸形和头部畸形发生率均显著高于外对照组 ($P<0.05$)。

2.5 精子运动能力评价

暴露组精子的 VAP 显著低于外对照组 ($P<0.05$), 其他各项指标三组间差异无显著性。见表 2。

表 1 各组男工精液常规指标及其异常率的比较

组别	n	精液量 (ml)		pH		活率 (%)		活动度 (级)		浓度(× 10 ⁶ /ml)		精子总数(× 10 ⁶)	
		$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$\bar{x}\pm s$	%	$G(\min, \max)$	%	$G(\min, \max)$	%
暴露组	24	2.41±1.45 *	45.8 *	7.14±1.54 #	8.3	55.62±17.84	66.7	1.74±0.64 *	50.0 *	34.48 (8.16, 93.84)	12.5	56.35 (2.00, 219.08) *	25.0
内对照组	46	2.84±1.71	37.0 *	7.47±0.27	8.7	57.10±12.52	54.3	1.91±0.64 *	43.5 *	36.44 (1.32, 91.96)	13.0	89.45 (10.21, 263.13)	15.2
外对照组	22	3.32±1.91	13.6	7.33±0.31	9.1	56.87±14.91	59.1	2.27±0.51	18.2	38.48 (11.35, 78.45)	4.5	113.24 (28.87, 255.52)	9.1

与外对照组比较, * $P<0.05$; 与内对照组比较, # $P<0.05$

表 2 各组男工精子运动指标及活动精子比率的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	VCL($\mu\text{m}/\text{sec}$)	VAP($\mu\text{m}/\text{sec}$)	VSL($\mu\text{m}/\text{sec}$)	BCF(Hz)	ALH(μm)	LIN(%)	STR(%)	MOT(%)
暴露组	66.28±16.16	36.58±4.98 *	29.61±12.18	4.28±1.35	10.77±2.85	43.80±8.84	76.92±9.86	25.13±12.72
内对照组	71.99±15.59	38.20±6.12	30.12±6.39	4.60±1.18	11.19±2.62	43.66±7.17	77.65±7.77	26.61±12.56
外对照组	72.31±14.90	39.49±5.85	31.75±7.32	4.88±1.21	11.24±2.45	45.92±8.12	81.00±6.00	28.23±9.03

与外对照组比较, * $P<0.05$

3 讨论

本研究发现, 乙草胺对男工精液质量产生了一定的影响, 尤其是精子总数及活动能力明显下降, 精子畸形率明显增加。精子发生过程任何一个环节受损都可能影响到精子质量和数量, 从而影响生殖功能。

精子的形态学检查是评价精子功能的一项重要指标, 精子畸形率的升高会导致雄性哺乳动物生育率的下降。本次检测发现, 乙草胺暴露组精子形态畸形率增高。由于哺乳动物的生精呈周期性, 一般认为精母细胞期最易受外界毒物的影响导致畸形的发生^[6]。人的生精周期约为 70 d, 本次研究对象均为从事农药生产工作 6 个月以上, 暴露时间大于人的生精周期, 在精子发生的各期均可受到农药的影响, 因此较易发生畸形。

CASA 为计算机支持的精子运动测试系统, 该系统是视频技术与计算机技术的高度结合, 可客观定量地评价精子运动的速度及运动方式, 近年来这项技术在国内已被应用到男性生殖毒理学的研究领域^[7]。精子运动能力可间接反映精子的受精力, VSL、ALH、BCF、VCL、LIN、STR 等运动参数与受精率呈明显相关关系^[8]。Toth 等研究发现^[9], 某些生殖毒物在不引起其他生殖指标改变的剂量下, 多项运动指标即发生明显改变, 说明精子运动能力测试是研究男性生殖毒性比较敏感的方法。本次研究表明在乙草胺农药生产环境下, 暴露组男工精子的 VAP 显著低于外对照组, VAP 下降说明精子活跃程度的降低。精子的运动能力的下降可能由于精子的形态结构或精子运动发育过程中受到环境有害因素的影响, 使其能量发育系统(精子的线粒体功能、ATP)、精子细胞信使系统(钙调

蛋白及 cAMP) 等受到了影响, 从而改变精子的运动能力。至于乙草胺改变精子运动能力的机制尚待进一步证实。

本研究中, 尽管乙草胺农药生产工人也同时暴露其他化合物如甲苯、二甲苯等, 但浓度较低, 这为研究乙草胺对人群的生殖危害提供了有利的条件。此外, 各组间有关的影响因素如年龄、工龄、吸烟及饮酒等也有十分好的均衡性, 从而保证了研究结果的客观性和准确性。但由于各种条件的限制致样本数量仍嫌不足, 有些结果虽显示变化, 但尚未见明显差异。因此, 相关的研究尚有待于进一步加强。

参考文献:

[1] 周学良, 朱良天. 精细化学品大全(农药卷) [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2000. 17.
[2] Abell A, Ernst E, Bonde JP. Semen quality and sexual hormones in greenhouse workers [J]. Scan J Work Environ Health, 2000, 26 (6): 492-500.
[3] Trentacoste SV, Friedmann AS, Youker RT, et al. Atrazine effects on testosterone levels and androgen-dependent reproductive organs in periparturient male rats [J]. J Androl, 2001, 22 (1): 142-148.
[4] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction [M]. 3rd ed. New York: Cambridge University Press, 1992. 3-11.
[5] 王守林, 陈海燕, 王心如, 等. 低浓度混苯暴露与精液质量下降及早孕丢失的关系 [J]. 中华预防医学杂志, 2000, 34 (5): 271-273.
[6] Geetha Mathew, K K Vijayakumari, A Abdal Rahiman. Methyl parathion induced sperm shape abnormalities in mouse [J]. Mutat Res, 1992, 280: 169-173.
[7] Thurston LJ, Siggins K, Iileham AJ, et al. Identification of amplified restriction fragment length polymorphism markers linked to genes controlling boar sperm viability following cryopreservation [J]. Biol Reprod, 2002, 66 (3): 545-554.

(下转第 6 页)

2 4 中毒组心肌酶及心电图异常率比较

ECG 异常表现为房室传导阻滞 6 例, Q—T 间期延长 6 例, S—T 段下降或 T 波倒置 7 例, 窦性心律不齐 7 例, 窦性心动过速 19 例, 窦性心动过缓 8 例。在中毒第 3 天, AST、CPK、LDH、α-HBDH、CK-MB 异常率分别为 86.6%、98.5%、94.0%、89.6%、79.1%, ECG 异常率为 49.3%, 可见, 心肌酶检测异常率明显高于 ECG 检查 ($P<0.001$)。见表 4。

表 4 急性毒鼠强中毒患者心肌酶及 ECG 异常率比较

项目	1 d		3 d		7 d		10 d	
	例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
AST	40	59.7	58	86.6	49	73.1	23	34.3
CPK	45	67.2	66	98.5	55	82.1	24	35.8
CK-MB	38	56.7	63	94.0	41	61.2	19	28.4
LDH	32	47.8	60	89.6	28	41.8	16	23.9
α-HBDH	51	76.1	53	79.1	39	58.2	20	29.9
ECG	11	16.4	33	49.3	8	11.9	3	4.5

χ²检验示, 不同时间 AST、CPK、CK-MB、LDH、α-HBDH 与 ECG 异常率比较, $P<0.001$

3 讨论

TEM (四次甲基二砷四胺), 属剧毒灭鼠药, 其直接抑制脑内 γ-氨基丁酸 (GABA) 与受体的结合^[3~5], 从而拮抗 GABA, 使中枢神经过度兴奋而导致惊厥, 中毒后主要表现为骤发抽搐, 重症者可因剧烈的强直抽搐导致呼吸衰竭而死亡^[4]。本组患者 59 例出现抽搐 (88.1%), 61 例 EEG 异常 (91.0%); 中毒程度越重, 抽搐越频繁, EEG 异常越明显^[7]。说明 TEM 对中枢神经系统有明显损害作用, EEG 检查对判断中毒患者脑功能损害状况、病情进展、预后有较重要的临床参考价值。

宁佩英^[8]、刘仁树^[10]等报道 TEM 对心脏及肝脏有直接毒害作用。发病后 CPK 酶最早升高, 升高值最大, 降幅也最大, 这可能与患者中毒后抽搐有关, 经治疗后, 抽搐得到控制, 其活力很快下降。CK-MB 绝大部分存在于心肌细胞浆内, 是一种心肌特异性酶, 其测定对心肌损伤的阳性率达 97.5%, 特异性达 100%^[11]。本组病例均有不同程度心脏损伤, 且病情越重, 酶活力越高, 心脏损伤越明显, 与文献报道相符^[9], 在发病后第 10 天与对照组比较, 差异仍有

显著性, 说明 TEM 中毒可引起心肌炎症改变, 这与 TEM 直接损害心肌, 造成心肌细胞损伤、坏死及心肌酶异常升高有关^[10]。

本组患者心肌及传导系统均受损害, 在接诊急性 TEM 中毒的患者时, 应同时进行心肌酶测定和 ECG 检查, 根据各种异常的 ECG 指导临床治疗, 对重症患者应进行心电监护, 使用心肌营养药, 防止心源性猝死^[11]。

通过观察发现 TEM 可致多器官损害, 是毒物对脏器的直接作用或间接作用, 或生产 TEM 时产生的杂质的作用, 有待进一步的阐明^[12]。经观察所有患者心肌酶、肝功能、EEG、ECG 最后均恢复正常, 说明 TEM 中毒引起的损害是可逆的, 这可能与及时清除毒物、密切观察、积极防治有关。

参考文献:

[1] 刘仁树. 应逐步规范禁用杀鼠剂中毒的临床分型 [J]. 中华急诊医学杂志, 2001, 10 (4): 221.
[2] 王桂英, 闫洪顺, 张淑兰. 血清酶检测在毒鼠强中毒诊治中的应用价值 [J]. 山东医药, 2004, 44 (1): 51.
[3] Roberts CJ, James VA, Collins JF, et al. The action of seven convulsants as antagonists of the GABA response of Limulus neurons [J]. Comp Biochem Physiol C, 1981, 70: 91-96.
[4] 张春颖, 朱桐君, 陈醒言, 等. 四次甲基二砷四胺的致惊作用及机制探讨 [J]. 卫生毒理学杂志, 2001, 15: 5-7.
[5] 张瑞萍, 邱泽武, 黄韶清. 毒鼠强中毒机制及救治进展 [J]. 中华急诊医学杂志, 2004, 7: 499.
[6] Bowery NG, Brown DA, Collins JF. Tetramethy lened isulpho-tetramine: an inhibitor of gamma-aminobutyric acid induced depolarization of the isolated superior cervical ganglion of the rat [J]. Br J Pharmacol, 1975, 53: 422-424.
[7] 于士平, 颜世龙. 急性毒鼠强中毒 135 例脑电图分析 [J]. 临床神经病学杂志, 2004, 17 (5): 399.
[8] 宁佩英, 何绮娜, 于富军, 等. 急性毒鼠强中毒 52 例 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15 (2): 108-109.
[9] 彭传敏, 赵晓琴, 张剑锋, 等. 急性毒鼠强中毒血清心肌酶谱的变化及其临床意义 [J]. 广西医学, 2004, 26 (7): 925-926.
[10] 刘仁树, 张慧莉, 邱泽武. 禁用杀鼠剂中毒与 MODS [J]. 中华急诊医学杂志, 2001, 10 (4): 283-284.
[11] 陈敬华, 张怡. 67 例儿童毒鼠强中毒心脏损害分析 [J]. 中国热带医学, 2004, 4 (1): 69-70.
[12] 肖明琼. 儿童急性毒鼠强中毒与多脏器损害 [J]. 中华医学丛刊, 2004, 4 (7): 26-27.

(上接第 3 页)

[8] Moore HDM, Akhondi MA. Fertilizing capacity of rat spermatozoa is correlated with decline in straight time velocity measured by continuous computer aided sperm analysis epididymal rat spermatozoa from the proximal

cauda have a greter fertilizing capacity in vitro than those from the distal cauda or vas deferens [J]. J Androl, 1996, 17: 50-60.
[9] Toth GP, Wang SR, McCarthy H, et al. Effect of three male reproductive toxicant on rat cauda epididymal sperm motion [J]. Reprod Toxicol, 1992, 6 (6): 507-515.