

草甘膦农药生殖毒性的研究进展

夏永鹏^{1,2}, 孙文均^{1,3}

1. 浙江大学医学院, 浙江省电磁及复合暴露健康危害重点实验室, 浙江 杭州 310058

2. 绍兴市上虞区疾病预防控制中心, 浙江 绍兴 312300

3. 浙江大学医学院环境医学研究所, 浙江 杭州 310058

摘要:

草甘膦是全球生产和使用量最大的除草剂, 在环境中有着较高的残留水平。已有研究结果显示, 草甘膦暴露可导致肝肾毒性、神经毒性等健康危害, 并具有一定的致癌性。此外, 现有的研究结果表明, 低浓度的草甘膦暴露会影响性激素的合成分泌, 破坏生殖系统的功能结构, 干扰配子的发育成熟, 并导致不良妊娠结局的发生等不良效应, 提示草甘膦具有一定的生殖毒性。因此, 草甘膦的生殖毒性引起了公众广泛的关注, 但具体的生殖健康损害表现及其潜在的分子机制尚不明确。本文对近年来有关草甘膦生殖毒性的研究进行综述, 分别探讨了草甘膦暴露对雄性哺乳动物、雌性哺乳动物和非哺乳动物的生殖毒性, 并从内分泌干扰效应、氧化应激、表观遗传修饰等方面分析草甘膦诱导生殖毒性的可能分子机制, 旨在全面阐述草甘膦生殖毒性的研究现状及其进展, 为草甘膦暴露对公众健康影响的科学评估及其后续的研究提供依据。

关键词: 草甘膦; 生殖毒性; 内分泌干扰效应; 氧化应激; 表观遗传

Study advances on reproductive toxicity induced by glyphosate XIA Yong-peng^{1,2}, SUN Wen-jun^{1,3} (1. Bioelectromagnetics Key Laboratory, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310058, China; 2. Shaoxing Shangyu Area Center for Disease Control and Prevention, Shaoxing, Zhejiang 312300, China; 3. Institute of Environmental Medicine, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310058, China)

Abstract:

Glyphosate is the most produced and widely used herbicide in the world, and has been reported a high residue level in the environment. Studies have shown that glyphosate exposure can lead to various health hazards, including liver and kidney toxicity, neurotoxicity, and even carcinogenicity. In addition, ever-growing studies have demonstrated that exposure to low concentrations of glyphosate may impact the synthesis and secretion of sex hormones, impair the functional structure of the reproductive system, interfere with the development and maturation of gametes, and lead to adverse pregnancy outcomes, suggesting that glyphosate has reproductive toxicity. Thus, the reproductive toxicity of glyphosate has aroused widespread concern, but the specific manifestations of reproductive health damage and its potential molecular mechanisms are still unclear. This review summarized recent studies on the reproductive toxicity of glyphosate in male mammals, female mammals, and non-mammals. In addition, the possible molecular mechanisms of glyphosate to induce reproductive toxicity were analyzed from the aspects of endocrine interference effect, oxidative stress, and epigenetic modification. This review aimed to comprehensively evaluate the present status and advances on studies of reproductive toxicity of glyphosate, and provide a scientific basis for glyphosate health risk assessment and further exploring its reproductive health hazard.

Keywords: glyphosate; reproductive toxicity; endocrine disruption; oxidative stress; epigenetic modification

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.20251

基金项目

国家自然科学基金青年科学基金项目 (81903290)

作者简介

夏永鹏 (1993—), 男, 硕士;
E-mail: 21718612@zju.edu.cn

通信作者

孙文均, E-mail: sunwj@zju.edu.cn

利益冲突 无申报

收稿日期 2020-05-20

录用日期 2020-10-16

文章编号 2095-9982(2020)12-1230-09

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

夏永鹏, 孙文均. 草甘膦农药生殖毒性的研究进展 [J]. 环境与职业医学, 2020, 37(12): 1230-1238.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.20251

Funding

This study was funded.

Correspondence to

SUN Wen-jun, E-mail: sunwj@zju.edu.cn

Competing interests None declared

Received 2020-05-20

Accepted 2020-10-16

►To cite

XIA Yong-peng, SUN Wen-jun. Study advances on reproductive toxicity induced by glyphosate [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(12): 1230-1238.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.20251

以农达 (Roundup®) 为代表的草甘膦 (glyphosate) 制剂是一种广谱除草剂, 大量生产使用对环境造成了严重污染, 其可能的健康危害引起了公众和学者的关注^[1]。草甘膦能特异性地抑制叶绿体中5-烯醇式丙酮酰莽草酸-3-磷酸合成酶 (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase, EPSPS) 的活性, 阻碍植物体

内芳香族氨基酸的合成,从而抑制植物的生长^[2]。动物体内芳香族氨基酸的代谢并不需要EPSPS的介导,因此早先研究认为草甘膦对人体无害^[3]。

近年来随着对草甘膦健康效应的深入研究,越来越多的证据表明草甘膦能引起多种健康危害。研究发现,草甘膦暴露能促进非霍奇金淋巴瘤^[4]、血管瘤^[5]和胰腺瘤^[6]的发生。国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)在2015年将草甘膦归类为2A类致癌物,即很可能对人类致癌^[5]。然而,欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)在对草甘膦的致癌性证据进行综合评估后,认为草甘膦致癌的可能性不高^[7]。有学者认为,草甘膦单独暴露不会诱导癌症的发生,但能促进致癌物诱导癌症的发生,即发挥了促癌剂的作用^[8]。由于现有的研究证据还不足以得到确切的结论,因此,目前对于草甘膦是否致癌尚存在争议^[9]。

除了致癌性,草甘膦暴露还有可能诱导其他健康危害,包括肝肾毒性、神经毒性、生殖毒性等^[10]。本文将对近几年草甘膦生殖毒性的研究进行综述,以期全面了解草甘膦生殖健康危害的研究现状,为进一步的科学研究提供参考。

1 草甘膦的基本信息

1.1 草甘膦的理化特性

草甘膦,学名为N-(膦酰基甲基)甘氨酸,分子式 $C_3H_8NO_5P$,相对分子质量169.07。草甘膦稳定性好,常温常压下为白色固体,熔点230℃,在水中的溶解度为 $12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (25℃),不溶于一般有机溶剂^[11]。为了增强草甘膦的溶解度,目前市场上的草甘膦除草剂多为草甘膦的水溶性盐,如内含41%异丙胺盐的农达,草甘膦的质量浓度达 $350\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。除了草甘膦这一活性成分外,草甘膦除草剂中还含有一些佐剂成分,如牛脂胺聚氧乙烯醚、烷基糖苷、茶皂素等。广义上的草甘膦是各类草甘膦除草剂的总称。

1.2 草甘膦的生产使用及污染状况

不同于传统的中高毒性有机磷农药,草甘膦的毒性更低^[12]。因此自问世以来,草甘膦除草剂迅速得到广泛应用,除了在农业中用于除草,草甘膦还用于城市绿化、水产养殖等领域^[13-14]。20世纪80年代初,美国科学家分离出抗草甘膦基因并成功将其转入植物体内,使抗草甘膦的大豆、玉米、水稻、小麦等转基因作物陆续得以推广种植^[15];加上近几年剧毒除草

剂的禁用(如我国于2016年7月1日起停止百草枯水剂的销售和使用),草甘膦跃居成为全球生产和使用量最大的除草剂^[16]。我国是个农业大国,草甘膦的生产和使用量位于世界前列。据统计,全世界注册在案的91家草甘膦生产企业中,有53家企业是在我国注册,比例超过一半^[5]。草甘膦是我国需求量最大的除草剂,也是使用量最多的农药之一^[17]。

研究表明,约有70%施用的草甘膦会进入土壤,导致土壤中的草甘膦含量急剧上升^[18-19]。此外,土壤中残留的草甘膦还会随着雨水、灌溉水迁移下渗,污染地表水和地下水。草甘膦的化学稳定性较好,在土壤和水中的半衰期约为1~3个月;在食物和饲料中的残留期更长,可达2年以上^[20]。2011年,范瑾煜等^[21]检测了太湖水体中草甘膦的含量,发现质量浓度最高达到 $15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;2013年,郭浩等^[22]对重庆鱼塘水的检测结果显示,草甘膦残留量达到 $1.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;2015年,卢素格等^[23]采集了河南省不同地区的54份水源水并对其中草甘膦含量进行了检测,结果发现,草甘膦检出率高达24.07%,检出质量浓度最高为 $0.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。以上研究结果提示,我国草甘膦的环境污染状况不容乐观。

通过饮食等途径,水体和食物中的草甘膦能被吸收进入体内。检测分析表明,不仅农村居民的尿液中常能检测到草甘膦,不直接接触草甘膦的城市居民的尿液中也能检测到草甘膦^[24]。美国60%~80%的民众(包括儿童)体内能检测到草甘膦,质量浓度最高达到 $233\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[20]。在农药生产的职业场所中,草甘膦的暴露情况则更加严峻。张锋等^[25]选择江苏、山东的5家草甘膦生产企业作为研究场所,检测工人尿液中草甘膦的含量,结果发现草甘膦质量浓度最高达到 $17\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2 草甘膦生殖毒性的流行病学研究

外在环境对生殖健康的影响巨大。早在20世纪末,学者们就已注意到农药暴露与生殖毒性间的关联。de Cock等^[26]通过问卷调查的方式收集了荷兰43对果农夫妻在1978—1990年间共91次的妊娠信息以及他们的农药暴露情况,并根据农药暴露水平对研究对象进行分组,比较不同组间受孕率的差异。结果发现,高暴露组中的受孕率降低($OR=0.42$, 95%CI: 0.20~0.92);此外,在高暴露组中,因生育问题而咨询过医生的夫妻比例达28%,而在低暴露组中这一数值仅为8%。以上结果提示农药暴露可能会危害生殖

健康。

作为全球生产和使用量最多的农药之一,草甘膦的生殖毒性同样引起了流行病学专家们的注意。基于加拿大安大略省农场家庭健康研究提供的数据,Curtis等^[27]通过问卷调查收集了2012例该地农场夫妻怀孕和施用农药的相关信息,利用Cox比例风险回归模型分析受孕率与农药暴露间的关联性。在对女性年龄、避孕药使用情况、吸烟史等混杂因素进行调整后发现,草甘膦暴露对适龄女性的受孕率的影响未呈现统计学意义($OR=0.61$, $95\%CI: 0.30\sim 1.26$)。在哥伦比亚,政府常通过空中喷洒草甘膦来控制非法作物的生长,非法作物越多的地区,喷洒草甘膦的量越大。2009年,Sanin等^[28]对来自哥伦比亚5个不同地区的2592名适龄妇女进行回顾性队列研究,使用Cox比例风险模型分析不同地区间妇女受孕时长的差异。在排除伴侣关系、年龄、水污染等混杂因素后发现,相比于近期无草甘膦喷洒的地区(博亚卡),有草甘膦喷洒地区(内华达山脉、普图马约、娜玲珑、考卡山谷)妇女的受孕时长更长。其中,考卡山谷地区有超过30年的草甘膦喷洒史,而该地区妇女的受孕时长最高($OR=0.15$, $95\%CI: 0.12\sim 0.18$)。

除了导致受孕率下降、受孕时长延长,草甘膦暴露还与自发性流产的发生有关联。同样基于加拿大安大略省农场家庭健康研究提供的数据,Arbuckle等^[29]分析了受孕前后草甘膦暴露对早晚期自发性流产发生的影响。该研究纳入了2110位妇女的3936次妊娠信息,其中包含395次自发性流产。结果发现,孕前接触草甘膦会增加自发性流产的发生风险($OR=1.4$, $95\%CI: 1.0\sim 2.1$);相比于早期流产,草甘膦诱导的晚期流产发生风险更高($OR=1.7$, $95\%CI: 1.0\sim 2.9$)。

2018年,Parvez等^[30]利用前瞻性出生队列研究分析了孕期草甘膦暴露对胎儿生长指标和妊娠期时长间的相关性。该研究共纳入了71位生活在美国印第安纳州且是单胎妊娠的妇女,使用液相色谱-串联质谱法检测产前妇女尿液中草甘膦的浓度,并通过问卷调查和病历收集孕妇的一般信息和胎儿的生长指标。作者发现,93%的孕妇尿液中草甘膦质量浓度高于检出限($0.1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),平均达 $3.40\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$;Spearman相关性分析的结果显示,尿液中高浓度的草甘膦与妊娠期时长的缩短相关($r=-0.28$, $P=0.02$),而胎儿生长指标(如出生体重百分位数和头围)则与草甘膦暴露无关联。

然而,多数流行病学研究仅通过研究对象的自我

报告对暴露情况进行分类,而未对研究对象的内外暴露剂量进行定量检测,这可能会导致某些实际有暴露的人群被误分类到未暴露组^[31],从而低估了草甘膦的生殖毒性。虽然目前针对草甘膦生殖毒性的流行病学研究较为有限,然而目前的证据提示草甘膦可影响适龄妇女的受孕与妊娠。

3 草甘膦对雄性哺乳动物的生殖毒性

3.1 动物实验

内分泌干扰物是指环境中能干扰人类内分泌系统并诱导异常效应的物质,包括双对氯苯基三氯乙烷、六氯苯、艾氏剂在内的多种农药都被确认为内分泌干扰物^[32]。草甘膦也是一种潜在的内分泌干扰物,它可以通过干扰性激素功能的正常表达从而诱导生殖毒性,影响雄性生殖系统的发育和成熟。Nardi等^[33]将青春期前的雄性大鼠暴露于 $50\sim 100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 草甘膦35d,检测大鼠的生殖器官发育和精子生成,以评估草甘膦暴露对睾丸发育的影响。结果发现,草甘膦暴露可导致大鼠精子数量下降、畸形率提高,且附睾质量和生精小管直径下降。Romano等^[34]的研究报道, $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 草甘膦暴露30d可诱导青春期前雄性大鼠睾丸结构改变,生精小管上皮细胞变薄,管腔直径增大,同时血清中睾酮的浓度也下降,大鼠进入青春期的时间点延后。Owagboriaye等^[35]将成年雄性大鼠分别以 3.6 、 50.4 、 $248.4\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦染毒12周后,也观察到大鼠精子数量下降,畸形率提高,而且组织病理检测发现大鼠睾丸发生退行性病变。

草甘膦暴露还能影响到子代的雄性生殖健康。Dallegrave等^[36]用 0 、 50 、 150 、 $450\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦对妊娠期和哺乳期内的雌性大鼠进行染毒,并对子代的雄性生殖功能进行检测,结果发现,子代大鼠血清睾酮水平降低,暴露剂量越高,睾酮水平越低;此外,子代大鼠的精子生成量下降,畸形率上升,精母细胞退化,生殖发育受到影响。Pham等^[37]的研究证实了上述发现,孕期小鼠接受 0.5 、 $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦暴露后,子代雄性小鼠血清中的睾酮浓度下降,精子的生成量也降低。

赵焕焕等^[38]研究发现, $800\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 草甘膦暴露12周能破坏大鼠睾丸生精小管、睾丸间质等结构,并降低血清睾酮水平;免疫组化的结果提示,睾丸间质细胞内类固醇激素合成急性调控蛋白(steroidogenic acute regulatory protein, StAR)和细胞色素P450胆固醇

醇侧链裂解酶 (cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme, P450_{sc}) 的蛋白水平降低, 这可能是草甘膦干扰睾酮合成, 诱导雄性生殖毒性的原因之一。

草甘膦暴露诱导的氧化应激不仅是产生肝肾毒性的重要机制^[39], 同样也是产生生殖毒性的诱因之一。范甜甜等^[40]用 20~2 000 mg·kg⁻¹ 的草甘膦染毒小鼠 30 d, 取睾丸组织检测发现, 脂质过氧化指标丙二醛的含量升高, 谷胱甘肽过氧化物酶的活性下降, 提示草甘膦可改变睾丸组织的氧化应激水平。

3.2 离体实验

在小鼠睾丸间质细胞上, 5 mg·L⁻¹ 的草甘膦暴露 24 h 能选择性地下调 StAR 和 17 α -羟化酶 (cytochrome P450, family 17, subfamily A, polypeptide 1, CYP17A1) 的表达, 抑制睾丸间质细胞睾酮的合成与分泌; 内质网应激激活的蛋白激酶 R 样内质网激酶/真核起始因子 2 α (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic initiation factor 2 alpha, PERK/eIF2 α) 信号通路介导草甘膦诱导的睾酮合成分泌紊乱^[41]。

睾丸支持细胞是精子成熟过程中能量和营养物质的重要来源, 它与生精细胞的生长有密切联系; 同时睾丸支持细胞还是形成血睾屏障的基础, 为精子的发育提供稳定的内环境。de Liz Oliveira Cavalli 等^[42]发现 36 mg·L⁻¹ 的草甘膦处理出生 30 d 的大鼠睾丸组织 30 min 后, 睾丸组织对钙离子的摄取增加, 同时诱导组织细胞氧化应激和脂质过氧化物的发生。进一步研究睾丸支持细胞时发现, 草甘膦能诱导睾丸支持细胞膜上 L 型电压依赖性钙通道开放和内质网膜上 IP₃ 受体调控的钙释放, 导致胞内钙离子超载和氧化应激的发生, 最终诱导睾丸支持细胞的凋亡。俞慧等^[43]的研究也发现, 90 mg·L⁻¹ 的草甘膦暴露能诱导小鼠睾丸支持细胞内乳酸脱氢酶的释放并致细胞凋亡, 而抗氧化剂预处理可有效阻止草甘膦诱导的睾丸支持细胞凋亡, 这提示氧化应激介导的细胞凋亡可能是草甘膦诱导生殖危害的重要机制之一^[44]。此外, 草甘膦诱导的氧化应激还会对睾丸支持细胞的生理功能产生影响。雄激素结合蛋白是由睾丸支持细胞生成的一种分泌蛋白, 该蛋白通过与睾酮结合来维持生精小管内睾酮的高浓度, 对精子形成与成熟具有重要意义。睾丸支持细胞内氧化应激的发生会干扰雄激素结合蛋白的合成与分泌^[45]。赵文红等^[46]的研究表明, 草甘膦暴露能抑制睾丸支持细胞内雄激素结合蛋白 mRNA 的表达; 此外, Nieminen 等^[47]发现波形蛋白 mRNA 的表

达水平也被草甘膦暴露所抑制。波形蛋白是构成细胞骨架的纤维蛋白之一, 其表达水平的下降会破坏血睾屏障的正常功能。该作者认为, 草甘膦可能通过抑制雄激素结合蛋白和波形蛋白的转录, 降低生精小管内睾酮的水平并影响血睾屏障的功能, 破坏生精小管的内稳态, 从而影响到精子的发育成熟。

草甘膦能直接影响生精细胞的结构和功能。曾明等^[48]用 60~180 mg·L⁻¹ 的草甘膦处理小鼠精原细胞 24 h 后, 发现随着草甘膦染毒浓度增加, 细胞彗星阳性率逐渐增高, 精原细胞的存活率下降, 并且胞内氧化应激水平升高, 抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸预处理则能抑制草甘膦的毒性作用, 提示草甘膦可能通过诱导精原细胞发生氧化应激, 导致细胞 DNA 的损伤, 最终诱导细胞的凋亡。Nerozzi 等^[49]的研究提示, 360 mg·L⁻¹ 的草甘膦暴露能降低猪精子的活力和运动能力, 损伤线粒体功能和顶体的完整性, 但精子的 DNA 则不受草甘膦暴露的影响。张文龙等^[50]通过透射电镜观察到, 经 25 mg·L⁻¹ 的草甘膦暴露 48 h 后, 小鼠精母细胞内质网出现不同程度的空泡肿胀, 线粒体外膜和内膜间间歇肿胀形成泡状; 免疫印迹的结果表明, cleaved-caspase3 的蛋白表达水平明显升高, 提示草甘膦通过激活 caspase3 诱导精母细胞的凋亡。

4 草甘膦对雌性哺乳动物的生殖毒性

4.1 动物实验

草甘膦对雌性哺乳动物生殖毒性的研究较少。有限的研究表明, 草甘膦对雌性哺乳动物的生殖健康也具有潜在的不良影响。芳香化酶 (aromatase, CYP19) 是属于细胞色素 P450 的一种复合酶, 它介导 C₁₉ 类固醇转化雌二醇和雌酮, 是雌激素生物合成的限速酶。Cassault-Meyer 等^[51]在大鼠的饮水中加入 0.5% 的草甘膦, 8 d 后发现大鼠体内芳香化酶的 mRNA 水平上升。草甘膦暴露还会影响雌性子宫的发育成熟^[52]。Alarcón 等^[53]通过皮下注射的方式用 2 mg·kg⁻¹ 的草甘膦暴露处理母羊 2 周后, 发现母羊子宫细胞增殖率降低, 调控子宫发育的相关分子水平 (如雌激素受体 α 、孕激素受体、Wnt 信号通路分子) 发生改变, 对子宫的发育和功能造成不利影响。

草甘膦暴露会影响到妊娠结局。Ait-Bali 等^[54]用 200、500 mg·kg⁻¹ 的草甘膦灌胃处理孕期雌性小鼠后发现, 草甘膦暴露会影响雌性小鼠的生育能力。和对照组相比, 草甘膦暴露组中小鼠的生育率和妊娠指

数更低, 窝数和每窝小鼠数也都减少。此外, 草甘膦还能影响产仔的性别比。Ren 等^[55]的研究结果显示, 草甘膦暴露后, 每窝小鼠中雌性小鼠的比例降低。草甘膦可能通过干扰胚胎的着床诱导妊娠结局的异常。Ingaramo 等^[56]用 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦对初生的雌性大鼠染毒 1~7 d, 待妊娠 19 d 时大鼠的生殖功能进行检测评估, 发现着床位点细胞内雌激素受体 α (Estrogen receptor α , ER α) 和孕激素受体的表达降低, 蜕膜面积和蜕膜/子宫内膜面积比下降, 胚胎着床位点发生形态学改变, 作者推测子宫内膜蜕膜化的异常可能是草甘膦导致雌性生殖毒性的主要诱因。

Milesi 等^[57]研究了母代大鼠草甘膦暴露对雌性子代发育的影响, 用 2 或 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的草甘膦对雌性大鼠进行染毒, 从妊娠第 9 天开始直至哺乳期结束。结果发现, 草甘膦暴露组的子代雌性小鼠发育迟缓, 体重和身长降低, 提示草甘膦的母代暴露可影响雌性子代的生长发育。Lorenz 等^[58]在围产期将母代雌性大鼠暴露于 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦后发现, 草甘膦暴露对大鼠血清中的孕酮水平无影响, 但能提高雌二醇的水平, 并诱导卵泡的着床前丢失。在另一项研究中, Lorenz 等^[59]用 $350\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的草甘膦处理妊娠期大鼠后, 发现 ER α 的 mRNA 水平上调, 相关启动子的 DNA 甲基化水平降低, 这样的结果提示草甘膦暴露诱导的生殖毒性并不局限于亲代, 还可能通过表观遗传等方式影响后代生殖系统的发育与功能^[60]。

4.2 离体实验

氧化应激是草甘膦导致雌性生殖细胞损伤的诱因之一。Bhardwaj 等^[61]的研究发现, $4.0\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的草甘膦暴露 72 h 后, 卵巢颗粒细胞中抗氧化酶活性下降, 脂质过氧化增强, 细胞凋亡增加, 抗氧化剂预处理对草甘膦诱导的细胞凋亡具有一定的保护作用。Yahfoufi 等^[62]在小鼠卵母细胞上的研究发现, 草甘膦通过发挥金属螯合剂的作用, 降低胞内锌离子的生物利用度, 从而促进胞内活性氧的增加; 此外, 该研究还发现草甘膦能破坏微管组织中心, 影响纺锤体的正常功能, 导致卵母细胞分裂时染色体排列的异常。Zhang 等^[63]将小鼠卵母细胞暴露于 $84.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦中 14 h 后, 同样观察到细胞中出现异常的纺锤体形态和 DNA 双链断裂。

除雄激素外, 草甘膦暴露也能抑制雌激素的分泌。Perego 等^[64]发现 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦暴露抑制了卵巢颗粒细胞雌二醇的分泌, 而孕酮的分泌则不受草甘

膦暴露的影响, 结果提示草甘膦对激素分泌的抑制作用具有一定的选择性。

5 草甘膦对非哺乳动物的生殖毒性

由于被用于水产养殖等领域, 草甘膦暴露对水生动物可能的生殖影响也引起了相关学者的注意。Lopes 等^[65]将雄性斑马鱼分别暴露于 5、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦中 24、96 h 后, 发现 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦暴露可损害精子的线粒体功能, 破坏胞膜的完整性, 并降低精子的运动能力。Silveira 等^[66]在乌拉圭牙汉鱼上同样观察到草甘膦对精子活性的损害。将乌拉圭牙汉鱼暴露于 $7.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦中 24 h 后, 观察到精子内发生氧化应激和线粒体功能的下降, 精子的活力也降低。有研究发现, 将斑马鱼卵巢暴露于 $65\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦中 15 d, 可导致卵母细胞内的类固醇生长因子-1 (steroid growth factor 1, SF-1) 蛋白水平增高, 卵母细胞形态发生异常改变。SF-1 参与多种类固醇激素合成的调控, 对生殖器官的发育具有重要意义, 作者认为草甘膦可能通过干扰 SF-1 的正常表达影响雌性斑马鱼卵巢的正常功能^[67]。Webster 等^[68]的研究结果表明, 交配期的斑马鱼暴露于 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦中 21 d, 会诱导斑马鱼胚胎过早孵化并提高胚胎的死亡率; 然而只在胚胎发育期间暴露于草甘膦, 则不会影响胚胎的死亡率, 作者推测草甘膦对斑马鱼的生殖毒性主要发生在配子形成期间。此外, 该研究还发现, 草甘膦暴露可下调 3β -羟基类固醇脱氢酶 (3β -hydroxysteroid dehydrogenase, 3β -HSD)、CYP17A1 和 P450_{scc} 等类固醇生成酶的基因表达水平, 提示草甘膦可能通过干扰类固醇激素的合成来诱导斑马鱼的生殖毒性。Smith 等^[69]发现 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦 (环境相关浓度) 能降低青鳉鱼鱼卵的孵化成功率, 并诱导鱼苗的发育异常; 此外, 草甘膦暴露还可抑制 DNA 甲基转移酶 DNMT1 的表达, 并促进甲基胞嘧啶加双氧酶 (Tet1、Tet2 和 Tet3) 的表达, 提示草甘膦会诱导表观遗传的改变。

草甘膦暴露对水生无脊椎动物的生殖也有影响。Córdova 等^[70]发现长期暴露于环境相关浓度的草甘膦 (草甘膦中位有效浓度, $\text{EC}_{50}=1.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 会损害涡虫的生殖力和受精率。Cuhra 等^[71]的研究提示, 水蚤母体暴露在 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的草甘膦水体中 55 d 后, 水蚤幼体的体积缩小, 随着暴露剂量的提高, 水蚤母体的繁殖能力受到进一步的影响, 流产率随之逐步提高。

6 总结与展望

现有的研究结果提示,草甘膦具有一定的生殖毒性。它能影响性激素的合成分泌,破坏生殖系统的功能结构,干扰配子的发育成熟,并诱导妊娠结局的异常。相关的机制研究结果表明,草甘膦是潜在的内分泌干扰物,它可通过影响性激素功能的正常表达,导致生殖系统的发育异常;同时还能诱导生殖细胞内氧化应激的发生,导致生殖细胞活性的下降和凋亡的发生。此外,诱导表观遗传的改变可能也是草甘膦生殖毒性的作用机制之一。然而,目前针对草甘膦生殖毒性的研究相对有限,一些研究结果间也存在矛盾,草甘膦诱导的生殖毒性表现和相应的分子机制总体上还不明确。基于人群水平的流行病学研究也比较缺乏,而且,现有研究主要集中在草甘膦暴露与女性受孕和妊娠的相关性方面,对男性生殖健康的影响鲜见。草甘膦对人体生殖健康的影响有多大?会导致何种类型的不良妊娠结局?以及明晰的作用机制是什么?这些问题还需要更多的研究结果去阐明。

另外,我国是草甘膦的生产和使用大国,职业人群的草甘膦暴露水平较高,然而,现行的草甘膦相关卫生标准是以早期的急性毒性为基础而制定的,存在明显的局限性。近年的研究提示低剂量的草甘膦暴露仍能对生殖健康产生潜在的影响,因此,全面科学地评估草甘膦的安全暴露限值也很有必要。

参考文献

- [1] RICHMOND ME. Glyphosate : a review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species [J] . J Environ Stud Sci, 2018, 8 (4) : 416-434.
- [2] DILL GM. Glyphosate-resistant crops : history, status and future [J] . Pest Manag Sci, 2005, 61 (3) : 219-224.
- [3] WILLIAMS AL, WATSON RE, DESESSO JM. Developmental and reproductive outcomes in humans and animals after glyphosate exposure : a critical analysis [J] . J Toxicol Environ Health, Part B, 2012, 15 (1) : 39-96.
- [4] SCHINASI L, LEON ME. Non-Hodgkin lymphoma and occupational exposure to agricultural pesticide chemical groups and active ingredients : a systematic review and meta-analysis [J] . Int J Environ Res Public Health, 2014, 11 (4) : 4449-4527.
- [5] GUYTON KZ, LOOMIS D, GROSSE Y, et al. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate [J] . Lancet Oncol, 2015, 16 (5) : 490-491.
- [6] WILLIAMS GM, BERRY C, BURNS M, et al. Glyphosate rodent carcinogenicity bioassay expert panel review [J] . Crit Rev Toxicol, 2016, 46 (S1) : 44-55.
- [7] EFSA. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate [J] . EFSA J, 2015, 13 (11) : 4302.
- [8] GEORGE J, PRASAD S, MAHMOOD Z, et al. Studies on glyphosate-induced carcinogenicity in mouse skin : a proteomic approach [J] . J Proteomics, 2010, 73 (5) : 951-964.
- [9] 倪志晶, 孙玮奇, 周志俊. 国际癌症研究机构与美国环保署有关草甘膦致癌性证据的回顾 [J] . 环境与职业医学, 2019, 36 (3) : 287-294.
- [10] MESNAGE R, DEFARGE N, DE VENDOMOIS JS, et al. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits [J] . Food Chem Toxicol, 2015, 84 : 133-153.
- [11] COSTELLO J. Research roundup [J] . Int J Palliat Nurs, 2015, 21 (8) : 410-411.
- [12] EL-DEMERDASH FM, YOUSEF MI, ELAGAMY EI. Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro) [J] . J Environ Sci Health, Part B, 2001, 36 (1) : 29-42.
- [13] CLEMENTS D, DUGDALE TM, BUTLER KL, et al. Herbicide efficacy for aquatic *Alternanthera philoxeroides* management in an early stage of invasion : integrating above-ground biomass, below-ground biomass and viable stem fragmentation [J] . Weed Res, 2017, 57 (4) : 257-266.
- [14] HANKE I, WITTMER I, BISCHOFBERGER S, et al. Relevance of urban glyphosate use for surface water quality [J] . Chemosphere, 2010, 81 (3) : 422-429.
- [15] GAGE KL, KRAUSZ RF, WALTERS SA. Emerging challenges for weed management in herbicide-resistant crops [J] . Agriculture, 2019, 9 (8) : 180.
- [16] ZHAN H, FENG Y, FAN X, et al. Recent advances in glyphosate biodegradation [J] . Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102 (12) : 5033-5043.
- [17] 束放, 李永平, 魏启文. 2018年种植业农药使用情况及2019年需求分析 [J] . 中国植保导刊, 2019, 39 (4) : 73-

- 76.
- [18] 呼蕾, 和文祥, 王旭东, 等. 草甘膦的土壤酶效应研究 [J]. 农业环境科学学报, 2009, 28 (4) : 680-685.
- [19] LUPI L, MIGLIORANZA K S, APARICIO V C, et al. Occurrence of Glyphosate and AMPA in an agricultural watershed from the southeastern region of Argentina [J]. Sci Total Environ, 2015, 536 : 687-694.
- [20] VAN BRUGGEN A H C, HE M M, SHIN K, et al. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate [J]. Sci Total Environ, 2018, 616-617 : 255-268.
- [21] 范瑾煜, 耿金菊, 王晓蓉. 离子色谱法测定太湖水体中草甘膦含量 [C] // 第六届全国环境化学大会暨环境科学仪器与分析仪器展览会摘要集. 上海: 中国化学会, 2011 : 222-223.
- [22] 郭浩, 张松, 宋胜利, 等. 亲水性相互作用色谱-串联质谱联用法检验鱼塘水中的草甘膦 [J]. 分析试验室, 2013, 32 (6) : 93-96.
- [23] 卢素格, 翟志雷, 张榕杰, 等. 河南省生活饮用水和水源水中草甘膦污染现状的初步调查 [J]. 环境卫生学杂志, 2015, 5 (1) : 55-57.
- [24] NIEMANN L, SIEKE C, PFEIL R, et al. A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers [J]. J Verbr Lebensm, 2015, 10 : 3-12.
- [25] 张锋, 潘丽萍, 丁恩民, 等. 职业人群草甘膦内外暴露指标的相关性 [J]. 环境与职业医学, 2018, 35 (11) : 990-995.
- [26] DE COCK J, WESTVEER K, HEEDERIK D, et al. Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in the Netherlands [J]. Occup Environ Med, 1994, 51 (10) : 693-699.
- [27] CURTIS K M, SAVITZ D A, WEINBERG C R, et al. The effect of pesticide exposure on time to pregnancy [J]. Epidemiology, 1999, 10 (2) : 112-117.
- [28] SANIN L H, CARRASQUILLA G, SOLOMON K R, et al. Regional differences in time to pregnancy among fertile women from five Colombian regions with different use of glyphosate [J]. J Toxicol Environ Health, Part A, 2009, 72 (15/16) : 949-960.
- [29] ARBUCKLE T E, LIN Z, MERY L S. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population [J]. Environ Health Perspect, 2001, 109 (8) : 851-857.
- [30] PARVEZ S, GERONA R R, PROCTOR C, et al. Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length : a prospective Indiana Birth cohort study [J]. Environ Health, 2018, 17 (1) : 23.
- [31] SANTOS R, PICCOLI C, CREMONESE C, et al. Thyroid and reproductive hormones in relation to pesticide use in an agricultural population in southern Brazil [J]. Environ Res, 2019, 173 : 221-231.
- [32] KALLIORA C, MAMOULAKIS C, VASILOPOULOS E, et al. Association of pesticide exposure with human congenital abnormalities [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 346 : 58-75.
- [33] NARDI J, MORAS P B, KOEPPE C, et al. Prepubertal subchronic exposure to soy milk and glyphosate leads to endocrine disruption [J]. Food Chem Toxicol, 2017, 100 : 247-252.
- [34] ROMANO R M, ROMANO M A, BERNARDI M M, et al. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology [J]. Arch Toxicol, 2010, 84 (4) : 309-317.
- [35] OWAGBORIAYE F O, DEDEKE G A, ADEMOLU K O, et al. Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat [J]. Exp Toxicol Pathol, 2017, 69 (7) : 461-468.
- [36] DALLEGRAVE E, MANTESE F D, OLIVEIRA R T, et al. Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats [J]. Arch Toxicol, 2007, 81 (9) : 665-673.
- [37] PHAM T H, DERIAN L, KERVARREC C, et al. Perinatal exposure to glyphosate and a glyphosate-based herbicide affect spermatogenesis in mice [J]. Toxicol Sci, 2019, 169 (1) : 260-271.
- [38] 赵焕焕, 庚天琦, 张燕, 等. 草甘膦对雄性大鼠睾酮合成的影响 [J]. 生态毒理学报, 2018, 13 (5) : 242-247.
- [39] MILIĆ M, ŽUNEC S, MICEK V, et al. Oxidative stress, cholinesterase activity, and DNA damage in the liver, whole blood, and plasma of Wistar rats following a 28-day exposure to glyphosate [J]. Arh Hig Rada Toksikol, 2018, 69 (2) : 154-168.
- [40] 范甜甜, 杨治峰, 薄存香, 等. 农达对小鼠睾丸组织损伤和氧化应激的影响 [J]. 现代预防医学, 2018, 45 (2) : 319-323.

- [41] XIA Y, YANG X, LU J, et al. The endoplasmic reticulum stress and related signal pathway mediated the glyphosate-induced testosterone synthesis inhibition in TM3 cells [J]. *Environ Pollut*, 2020, 260 : 113949.
- [42] De LIZ OLIVEIRA CAVALLI VL, CATTANI D, HEINZ RIEG CE, et al. Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and sertoli cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 65 : 335-346.
- [43] 俞慧, 赵文红, 刘春芳, 等. 茶多酚对草甘膦诱导小鼠睾丸支持细胞损伤的影响 [J]. *蚌埠医学院学报*, 2013, 38 (6) : 652-654.
- [44] VANLAEYS A, DUBUISSON F, SERALINI GE, et al. Formulants of glyphosate-based herbicides have more deleterious impact than glyphosate on TM4 sertoli cells [J]. *Toxicol in Vitro*, 2018, 52 : 14-22.
- [45] HUANG W, QUAN C, DUAN P, et al. Nonylphenol induced apoptosis and autophagy involving the Akt/mTOR Pathway in Prepubertal Sprague-Dawley male rats in vivo and in vitro [J]. *Toxicology*, 2016, 373 : 41-53.
- [46] 赵文红, 俞慧, 张建国, 等. 草甘膦对小鼠睾丸支持细胞凋亡及雄激素结合蛋白、波形蛋白 mRNA 表达的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2013, 33 (11) : 1709-1713.
- [47] NIEMINEN M, HENTTINEN T, MERINEN M, et al. Vimentin function in lymphocyte adhesion and transcellular migration [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8 (2) : 156-162.
- [48] 曾明, 黄婷, 易吉平, 等. 草甘膦对 GC-1 小鼠精原细胞的毒性作用及 N-乙酰半胱氨酸的干预效应 [J]. *生态毒理学报*, 2014, 9 (1) : 159-166.
- [49] NEROZZI C, RECUERO S, GALEATI G, et al. Effects of Roundup and its main component, glyphosate, upon mammalian sperm function and survival [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1) : 11026.
- [50] 张文龙, 姜晓, 尹俐, 等. 草甘膦致生殖细胞毒性效应及机制的初步研究 [J]. *局解手术学杂志*, 2017, 26 (11) : 781-785.
- [51] CASSAULT-MEYER E, GRESS S, SÉRALINI GÉ, et al. An acute exposure to glyphosate-based herbicide alters aromatase levels in testis and sperm nuclear quality [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 38 (1) : 131-140.
- [52] GUERRERO SCHIMPF M, MILESI MM, INGARAMO PI, et al. Neonatal exposure to a glyphosate based herbicide alters the development of the rat uterus [J]. *Toxicology*, 2017, 376 : 2-14.
- [53] ALARCÓN R, RIVERA OE, INGARAMO PI, et al. Neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide alters the uterine differentiation of prepubertal ewe lambs [J]. *Environ Pollut*, 2020, 265 : 114874.
- [54] AIT-BALI Y, BA-M'HAMED S, GAMBAROTTA G, et al. Pre- and postnatal exposure to glyphosate-based herbicide causes behavioral and cognitive impairments in adult mice : evidence of cortical ad hippocampal dysfunction [J]. *Arch Toxicol*, 2020, 94 (5) : 1703-1723.
- [55] REN X, LI R, LIU J, et al. Effects of glyphosate on the ovarian function of pregnant mice, the secretion of hormones and the sex ratio of their fetuses [J]. *Environ Pollut*, 2018, 243 : 833-841.
- [56] INGARAMO PI, VARAYOUD J, MILESI MM, et al. Effects of neonatal exposure to a glyphosate-based herbicide on female rat reproduction [J]. *Reproduction*, 2016, 152 (5) : 403-415.
- [57] MILESI MM, LORENZ V, PACINI G, et al. Perinatal exposure to a glyphosate-based herbicide impairs female reproductive outcomes and induces second-generation adverse effects in Wistar Rats [J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92 (8) : 2629-2643.
- [58] LORENZ V, PACINI G, LUQUE EH, et al. Perinatal exposure to glyphosate or a glyphosate-based formulation disrupts hormonal and uterine milieu during the receptive state in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 143 : 111560.
- [59] LORENZ V, MILESI MM, GUERRERO SCHIMPF M, et al. Epigenetic disruption of estrogen receptor alpha is induced by a glyphosate-based herbicide in the preimplantation uterus of rats [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2019, 480 : 133-141.
- [60] NILSSON EE, SKINNER MK. Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease susceptibility [J]. *Transl Res*, 2015, 165 (1) : 12-17.
- [61] BHARDWAJ JK, MITTAL M, SARAF P. Effective attenuation of glyphosate-induced oxidative stress and granulosa cell apoptosis by vitamins C and E in caprines [J]. *Mol Reprod Dev*, 2019, 86 (1) : 42-52.
- [62] YAHFOUFI ZA, BAI D, KHAN SN, et al. Glyphosate induces metaphase II oocyte deterioration and embryo damage by zinc depletion and overproduction of reactive oxygen species [J]. *Toxicology*, 2020, 439 : 152466.

- [63] ZHANG JW, XU DQ, FENG XZ. The toxic effects and possible mechanisms of glyphosate on mouse oocytes [J]. Chemosphere, 2019, 237 : 124435.
- [64] PEREGO MC, SCHUTZ LF, CALONI F, et al. Evidence for direct effects of glyphosate on ovarian function : glyphosate influences steroidogenesis and proliferation of bovine granulosa but not theca cells *in vitro* [J]. J Appl Toxicol, 2017, 37 (6) : 692-698.
- [65] LOPES FM, VARELA JUNIOR AS, CORCINI CD, et al. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio* [J]. Aquat Toxicol, 2014, 155 : 322-326.
- [66] SILVEIRA T, VARELA JUNIOR AS, CORCINI CD, et al. Roundup® herbicide decreases quality parameters of spermatozoa of silversides *Odontesthes humensis* [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2019, 102 (1) : 1-6.
- [67] ARMILIATO N, AMMAR D, NEZZI L, et al. Changes in ultrastructure and expression of steroidogenic factor-1 in ovaries of zebrafish *Danio rerio* exposed to glyphosate [J]. J Toxicol Environ Health, Part A, 2014, 77 (7) : 405-414.
- [68] WEBSTER TM, LAING LV, FLORANCE H, et al. Effects of glyphosate and its formulation, roundup, on reproduction in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Environ Sci Technol, 2014, 48 (2) : 1271-1279.
- [69] SMITH CM, VERA MK, BHANDARI RK. Developmental and epigenetic effects of Roundup and glyphosate exposure on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Aquat Toxicol, 2019, 210 : 215-226.
- [70] CORDOVA LÓPEZ AM, SARMENTO RA, DE SOUZA SARAIVA A, et al. Exposure to Roundup® affects behaviour, head regeneration and reproduction of the freshwater planarian *Girardia tigrina* [J]. Sci Total Environ, 2019, 675 : 453-461.
- [71] CUHRA M, TRAAVIK T, BØHN T. Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna* [J]. Ecotoxicology, 2013, 22 (2) : 251-262.

(英文编辑：汪源；责任编辑：丁瑾瑜)

· 告知栏 ·

欢迎关注《环境与职业医学》微信公众号

《环境与职业医学》微信公众号包括“读者”“作者”和“我们”三个主菜单，主要提供稿件状态查询、当期最新内容及稿件撰写要求等内容，同时也发布国内外最新研究动态及发展前沿等资讯，满足读者网络时代碎片化阅读的需求。本平台旨在为编者、作者、读者之间搭建一个分享、学习、互动的平台，以此推动《环境与职业医学》的健康发展。

请直接扫描右侧二维码或在公众号中搜索“环境与职业医学”（微信号：JEOM），即可关注本刊微信公众号。

