

Niveles de plomo en sangre, calidad seminal y fragmentación espermática en trabajadores de talleres de baterías

Tania Pérez Bueno¹
Arelis Jaime Novas¹
Lucía Fariñas Rodríguez²
Magali Menéndez González³
Yuandia Pacheco González⁴
Judith Pupo Balboa²
Lilian Villalba Rodríguez¹
Caridad Cabrera Guerra¹
Anamarys Pandolfi Blanco²
Aybel Pérez Martínez¹
Heliadora Díaz Padrón¹
Yunia Marichal Pedraja⁴

¹ Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores (INSAT)/Riesgos Químicos, La Habana, Cuba, bueno@infomed.sld.cu

² Centro Nacional de Genética Médica (CNGEM)/Estrés Oxidativo, La Habana, Cuba, lucia.farinas@infomed.sld.cu

³ Hospital Materno Infantil "Ángel Arturo Aballí"/Reproducción Asistida, La Habana, Cuba, magalismsg@infomed.sld.cu

⁴ Hospital Clínico Quirúrgico Docente "Julio Trigo López"/Endocrinología, La Habana, Cuba, yuandiapg@infomed.sld.cu

Resumen:

Introducción: Es amplia la variedad de trastornos fisiológicos, bioquímicos y conductuales que se reportan por la exposición ocupacional a plomo, incluyendo afectaciones a la fertilidad masculina. En la actualidad los parámetros del espermograma no dan una información completa sobre el potencial fecundante del semen y la capacidad de dar lugar a un embrión sano. Es por eso el interés en desarrollar técnicas encaminadas a estudiar el daño del ADN espermático.

Objetivos: Determinar los niveles de plomo en sangre (Pb-S), evaluar la calidad seminal y la fragmentación del ADN espermático en trabajadores ocupacionalmente expuestos a plomo en talleres de baterías.

Método: Se estudiaron 12 trabajadores de talleres de baterías (GE) y se compararon con trabajadores sin exposición a este metal (GNE). Se determinaron los niveles de plomo en sangre, los parámetros seminales (volumen, concentración, movilidad y morfología) y el índice de fragmentación del ADN espermático (IFC).

Resultados: El 58% de los trabajadores expuestos presentaron niveles de Pb-S en valores de intoxicación. En cuanto a la calidad seminal en el GE solo el 72,7% fueron normozoospermicos y en el GNE el 100% no mostró ninguna alteración. Los resultados promedio del IFC en ambos grupos correspondieron a valores de daño moderado al ADN espermático.

Conclusiones: El estudio confirmó el riesgo de contaminación del proceso de recuperación de baterías. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ambos grupos evaluados en cuanto a los parámetros seminales y la fragmentación del ADN. Se precisa evaluar un mayor número de sujetos antes de dar conclusiones definitivas.

Palabras clave: exposición ocupacional, ADN espermático, parámetros seminales, plomo en sangre.

I. INTRODUCCIÓN

La intoxicación por plomo (Pb) es considerada una de las enfermedades profesionales más importantes (1, 2). A nivel internacional existe la preocupación científica acerca del riesgo potencial de los metales pesados para la salud reproductiva masculina, específicamente, por el incremento de los trastornos de la fertilidad en hombres con exposición ocupacional a Pb, así como el aumento de las tasas de anomalías en el desarrollo del tracto urogenital y cáncer testicular (3).

Se plantea que el Pb se puede depositar en los macrófagos del tejido intersticial del testículo, en los mioцитos y células epiteliales del epidídimo, lo que produce alteraciones en la espermatogénesis (reducción en cantidad y motilidad, e incremento de formas anormales de los espermatozoides), reducción de la libido, daño cromosómico, función prostática anormal, cambios en los niveles de testosterona, entre otras (4).

Investigaciones realizadas señalan que trabajadores con altos niveles de plomo en la sangre (Pb-S) tienen daños elevados en el ADN espermático, sugiriendo que el Pb puede interactuar con las protaminas disminuyendo su unión al ADN y alterando la estabilidad de la cromatina espermática (5, 6).

La evaluación de la integridad del ADN en el espermatozoide, además del estudio de los parámetros sistémicos seminales, aporta una información adicional acerca de la calidad del espermatozoide. Aunque el análisis del semen continúa siendo la prueba clínica más importante para predecir infertilidad, no revela defectos en el espermatozoide que afecten la integridad del genoma masculino. Los pacientes pueden tener espermogramas normales y seguir siendo infértiles, pues el origen de la infertilidad puede ser por la presencia del ADN del espermatozoide anómalo, factor que no se mide de forma sistemática. La integridad del ADN en el espermatozoide se puede considerar como un parámetro independiente e indicativo de su calidad, se ha observado que de un 10-15% de los varones estériles presentan un espermograma normal (7).

El propósito de este trabajo fue determinar los niveles de Pb-S y evaluar la calidad seminal en un grupo de trabajadores expuestos ocupacionalmente a Pb en talleres de baterías, a través de la determinación de los parámetros seminales y el índice de fragmentación de la cromatina espermática (IFC).

II. MÉTODO

A. *Diseño del estudio*

Estudio descriptivo de corte transversal en un grupo de 12 trabajadores del sexo masculino ocupacionalmente expuestos a Pb (GE), que acudieron a la consulta de enfermedades profesionales del INSAT en los años 2019-2020. Además, se incluyó una muestra de referencia (GNE) constituida por 12 hombres no expuestos a Pb.

Los participantes se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios de inclusión: VIH negativo y Serología no Reactiva, no padecer de enfermedades crónicas descontroladas en el momento del análisis, no encontrarse bajo tratamiento con antibióticos, ni haber sufrido infecciones virales o bacterianas 30 días antes de la toma de muestras. Los integrantes del GE debieron cumplir con un período mínimo de un año de exposición ocupacional a Pb.

B. *Materiales biológicos*

Muestras de sangre: Los participantes aportaron 5 mL de sangre para la determinación de Pb-S. La extracción se llevó a cabo en ayunas, por punción venosa siguiendo los procedimientos establecidos.

Muestras de semen: Las muestras fueron obtenidas por masturbación, en recipientes estériles, luego de una abstinencia sexual de 3 a 5 días. Luego de la licuefacción del semen, se dispensó 1 mL en tubos *Eppendorf* para la evaluación del IFC y el resto se empleó para el espermograma.

C. Determinaciones biológicas

Pb-S: El contenido de Pb se determinó por espectrofotometría de absorción atómica a 283,3 nm con llama de aire acetileno según método # 8003 del Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, siglas en inglés) de EE. UU. (8). La concentración del metal se estimó mediante una curva de calibración de concentración conocida. El límite de detección de la técnica analítica fue de 5 µg/dL con un coeficiente de correlación mayor de 0,990.

Espermograma: Se realizó el examen básico del semen donde se evaluaron entre otros los parámetros volumen, concentración, movilidad y morfología (9).

IFC: La cuantificación del daño se realizó al microscopio óptico de campo claro con un objetivo de 40 X. Se observaron al azar 500 espermatozoides por muestra, 250 células por lámina, teniendo en cuenta los niveles de daño de acuerdo al tamaño del halo de cromatina/ADN de los espermatozoides (10).

D. Instrumentos

A cada participante le fue realizada una entrevista llevada a cabo por especialistas en salud ocupacional, en la cual se le aplicó un cuestionario como procedimiento para recopilar la información. Los sujetos respondieron preguntas dirigidas sobre sus datos generales, hábitos tóxicos y actividad ocupacional.

E. Aspectos éticos

El presente trabajo se realizó cumpliendo las normas de ética establecidas para trabajos de pesquisa en humanos, además se contó con la aprobación del Comité de Ética de las instituciones participantes.

F. Técnicas de análisis de la información

La información recopilada en el cuestionario de cada trabajador, así como los resultados de las determinaciones realizadas en el laboratorio, se incorporaron a una base de datos en el programa SPSS versión 23 para Windows y se procesaron utilizando los estadígrafos del programa. Se asumió un nivel de significación de 0,05 para todas las pruebas estadísticas realizadas en el estudio.

G. Control de sesgos

Los resultados pudieron verse afectados por el sesgo de memoria de los participantes, por quizás no recordar debidamente algunos aspectos indagados. Además, existió el riesgo de la selección adecuada de los participantes, fundamentalmente en el GNE, por ser un estudio de participación voluntaria.

III. RESULTADOS

A. Caracterización de los trabajadores participantes en el estudio.

Tanto en el grupo de trabajadores expuestos a Pb como en los que no tuvieron valores de exposición, predominaron las edades menores de 35 años con porcentajes de 75,0 y 58,3% respectivamente. El promedio de edad del GE fue de $33,4 \pm 10,5$ años y del GNE de $36,6 \pm 10,7$ años, sin diferencia significativa ($p=0,33$) al comparar ambos grupos.

Se pudo conocer que en el GE el 58% eran fumadores y en el GNE el 25%. Al realizar la comparación entre grupos no existió diferencias significativas para esta variable ($p=0,10$).

Un estudio realizado por Marzec et al. (11) encontraron mayor concentración de Pb en individuos consumidores de alcohol comparado con los que no consumen este, planteando que el impacto de alcohol puede manifestarse por una perturbación en el equilibrio de Pb en el organismo. En este sentido es preocupante la conducta de los obreros expuestos a Pb, donde más de la mitad de ellos (58%) declararon beber alcohol los fines de semana. En el GNE el 50% planteó ingerir bebidas alcohólicas solo de forma ocasional.

La totalidad de los obreros examinados en el GE presentó concentraciones de Pb-S superiores a $15 \mu\text{g/dL}$. Estos trabajadores laboran durante 8 horas diarias como promedio, en períodos entre 1 y 34 años de exposición en talleres donde se dedican al reciclaje y reparación de baterías. Los valores de Pb-S se hallaron entre $25,8$ y $77,0 \mu\text{g/dL}$, con promedio de $56,7 \mu\text{g/dL}$.

Se plantea por varios autores que el plomo reconoce al reciclaje y fabricación secundaria de baterías como una de las actividades que causa mayor contaminación laboral y ambiental (12, 13).

Los resultados evidencian la presencia biológica de altas concentraciones de Pb en los trabajadores evaluados, lo que se relaciona con su exposición laboral. En la Figura 1 se observa como el 42 % de los obreros mostraron valores de exposición ($15-60 \mu\text{g/dL}$) con una media de Pb-S de $44,6 \pm 12,1 \mu\text{g/dL}$ y $4,3 \pm 2,7$ años de exposición. Por otra parte, el 58% mostró cifras de intoxicación ($>60 \mu\text{g/dL}$) con una media de $65,7 \pm 6,1 \mu\text{g/dL}$ de Pb-S y $2,9 \pm 1,5$ años de exposición. Además, puede observarse que los mayores niveles de Pb corresponden al rango de $60-69 \mu\text{g/dL}$. Se pudo constatar la existencia de diferencias significativas ($p= 0,008$) al comparar los niveles de Pb-S de los trabajadores con valores de intoxicación con los de exposición, no ocurriendo así con la variable años de exposición ($p= 0,406$).

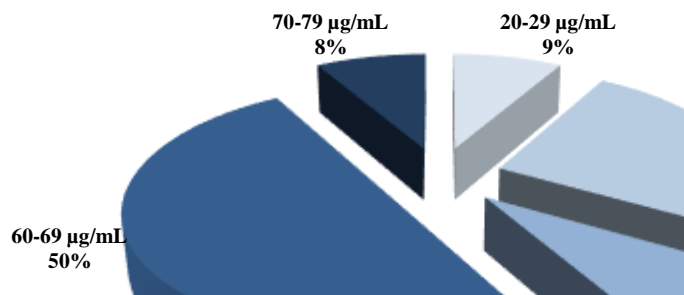


Fig. 1 Porcentaje de plomo en sangre de los trabajadores expuestos.

En Cuba, según lo establecido en el Programa Nacional de Salud Ocupacional del Ministerio de Salud Pública, cuando la concentración de Pb-S es superior a $60 \mu\text{g/dL}$, se considera diagnóstico presuntivo de

intoxicación plúmbica y se requiere la separación inmediata de la exposición hasta que este valor haya disminuido y los síntomas clínicos, en caso de existir, hayan desaparecido (14).

Este estudio confirmó el riesgo de contaminación del proceso de recuperación de baterías en todas las instalaciones evaluadas. Todos los trabajadores examinados fueron notificados de sus resultados, los que presentaron valores por encima de 50 $\mu\text{g/dL}$ se les indicó que acudieran a la consulta de enfermedades profesionales y se le comunicó a su empleador la necesidad de su aislamiento del puesto de trabajo.

Gottesfeld y Pokhrel (15) llevaron a cabo una revisión de 37 estudios publicados sobre las exposiciones en plantas de fabricación y reciclaje de baterías de Pb-ácido en los países en desarrollo. Evidenciaron que el nivel promedio de Pb en la sangre de los trabajadores fue de 47 $\mu\text{g/dL}$ en las plantas de fabricación de baterías y de 64 $\mu\text{g/dL}$ en las instalaciones de reciclaje.

Considerando que el Pb no tiene función fisiológica, cualquier nivel encontrado en el organismo es potencialmente peligroso. Al mismo tiempo, por ser el Pb el contaminante global más extendido se explica que en mayor o menor medida existan niveles de Pb en poblaciones que no lo manipulan. En el grupo de trabajadores sin exposición, las cifras se encontraron en el intervalo de 5,0 a 9,0 $\mu\text{g/dL}$, con un valor promedio de 5,49 $\mu\text{g/dL}$ que indica una presencia normal de este metal en sangre.

No existe una concentración sérica segura de Pb, sin embargo, los efectos tóxicos tienden a aparecer cuando el Pb en sangre supera los 10 $\mu\text{g/dL}$ en los adultos (1). En este sentido, ningún trabajador del grupo sin exposición alcanzó esa cifra. En el 2007 Ibarra et al. (16) evaluaron los niveles de Pb en sangre de la población en edad laboral de cuatro municipios de La Habana, sin exposición conocida, laboral y/o extralaboral al Pb y sus derivados, destacándose valores de hasta 12,4 $\mu\text{g/dL}$.

B. Calidad espermática en los trabajadores evaluados.

En el estudio que se presenta se incluyeron 11 hombres en el GE y 10 en el GNE, debido a la no disposición de tres de estos sujetos a participar en la donación voluntaria del semen. Con esta variación, en el GE la edad media fue $31,4 \pm 8,1$ años y en el GNE de $35,9 \pm 10,9$ años, sin diferencia significativa ($p=0,34$) al comparar ambos grupos.

La Figura 2 muestra los valores de la mediana de los parámetros concentración, movilidad y morfología del semen. En el GE la concentración espermática fue de $31,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL con valores que oscilaron en el rango de $3,1-222,5 \times 10^6/\text{mL}$, movilidad de 54% (1-88%) y 50% de espermatozoides morfológicamente normales (30-70%). Para el GNE la concentración espermática fue de $46,5 \times 10^6$ espermatozoides/mL ($22,0-200,0 \times 10^6/\text{mL}$), movilidad de 66% (49-87%) y morfología de 50% de formas normales (30-80%).

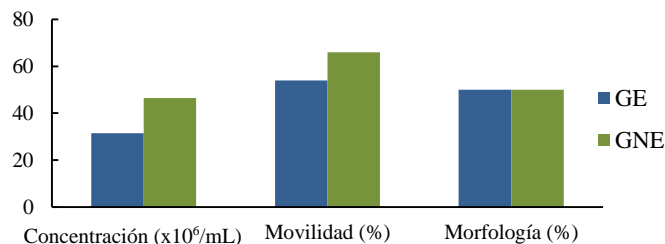


Fig. 2 Mediana de los parámetros concentración, movilidad y morfología de los trabajadores evaluados.

Al comparar estos tres parámetros seminales, se pudo observar que no existieron diferencias significativas entre ambos grupos evaluados en cuanto a la concentración espermática ($p=0,40$), viabilidad ($p=0,32$) y formas normales ($p=1,00$). Sin embargo, en el GE las variables concentración espermática y movilidad presentaron la mediana por debajo de los valores del GNE, donde el 27,3% y el 18,2% de los casos mostraron estos conteos disminuidos según los estándares de la OMS (9). Para la morfología, todos los trabajadores cumplieron este indicador.

En síntesis, en base a los tres parámetros clásicos de calidad seminal: concentración, movilidad y morfología, podemos decir que en el GE solo el 72,7% fueron normozoospermicos y en el GNE el 100% no mostró ninguna alteración.

Algunos autores han observado relación entre el tiempo de abstinencia sexual con las variables volumen de semen, concentración espermática y movilidad (17). Los días de abstinencia sexual en el momento de depositar el eyaculado no variaron significativamente entre los dos grupos ($p=0,55$), siendo de $3,1\pm 0,5$ y $3,2\pm 0,6$ días como promedio en el GE y en el GNE respectivamente.

En correspondencia con el volumen medio de las muestras seminales, este no varió significativamente entre los grupos, en el GE fue de $3,6\pm 1,6$ mL y en el GNE de $4,0\pm 2,0$ mL ($p=0,55$).

Los resultados promedio del IFC tanto del GE como del GNE correspondieron a valores de daño moderado al ADN espermático ($21,0\pm 8,9\%$ y $20,3\pm 8,2\%$ respectivamente), al resultar por encima de 15%, cifra considerada como el límite normal para el IFC en esta investigación, no encontrándose diferencias significativas entre ellos ($p=0,89$). No obstante, en el GE se obtuvo un 13% más de casos alterados con respecto a los controles, con mayor proporción en el IFC tanto en daño moderado al ADN (55% en el rango de 15 a 30%) como en daño severo (18% superior a 30%). El GNE presentó 50% de daño moderado y 10% de daño severo.

Se plantea que IFC superiores a 30% pueden estar asociados a índices bajos de embarazo o pérdidas fatales y valores de 38% como un caso que se presentó en el GE pueden relacionarse con una mayor frecuencia de abortos recurrentes (18).

Con respecto a los hábitos tóxicos de los trabajadores, se comprobó que estos no incidieron en la calidad espermática. Autores (19) han advertido que muestras de semen de hombres infértiles fumadores tienen altos niveles de estrés oxidativo respecto a los no fumadores, sin embargo, otros (20) describen no encontrar asociación entre tabaco y el IFC. En tal sentido se recomienda la promoción de hábitos saludables, como disminución de consumo de alcohol y tabaco, fundamentalmente a los trabajadores del GE, estas conductas unidas a los altos límites de Pb-S pueden incrementar los daños a la salud.

A pesar de que algunos autores encuentran asociación entre la exposición a Pb con la fertilidad reducida, dado por el efecto directo del Pb en las gónadas, la literatura no es concluyente con respecto al rol de esta exposición en la fertilidad (21, 22). En su investigación Méndez et al. (23) expusieron *in vitro* semen humano a Pb, constatando que el Pb es capaz de disminuir la movilidad espermática pero no ocasiona alteraciones a nivel de membrana o de la cromatina espermática.

La mayoría de los resultados de nuestro estudio contrastan de cierta forma con las expectativas, se esperaba encontrar alguna diferencia estadística entre los trabajadores con mayores niveles de Pb-S. El trabajo que se presenta constituye el primer reporte en Cuba de la evaluación de la calidad espermática de trabajadores expuestos ocupacionalmente a Pb, muestra resultados muy preliminares, con un número limitado de casos hasta el momento. Es preciso integrar nuevos individuos a la investigación para llegar a conclusiones certeras sobre la relación entre la exposición a Pb y la calidad del semen en trabajadores expuestos ocupacionalmente a Pb. En trabajos publicados (24) se observa que el porcentaje de participación para estudios de este tipo es baja, por la exigencia de donación de la muestra seminal.

Por todo lo reflejado en la literatura científica, respecto a los efectos del Pb en la salud reproductiva y general, debe ser motivo para que los trabajadores que se exponen a este cumplan las medidas de protección individual y colectiva. La vigilancia de la salud ocupacional de los trabajadores que laboran con este metal tóxico, particularmente aquellos con exposiciones ambientales significativas, debe considerar dentro del seguimiento de la exposición a Pb, la promoción de la salud reproductiva, así como fomentar cambios en el estilo de vida de sus trabajadores.

Desde otra perspectiva, la evaluación de la concentración de Pb en semen, al parecer ofrece una manera más precisa para establecer un efecto de este metal sobre el aparato reproductor masculino. Estudios en este campo (22, 25) sugieren que el Pb en semen es el principal indicador de daño al nivel reproductivo, incluso más que la evaluación de la exposición de Pb en sangre, constituyendo así un biomarcador más conveniente.

IV. CONCLUSIONES

- El 58% de los trabajadores expuestos presentaron niveles de Pb-S con valores de intoxicación.
- No se observaron diferencias significativas en los parámetros seminales y de fragmentación del ADN espermático entre los sujetos expuestos a plomo y los no expuestos, en la muestra evaluada.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Intoxicación por plomo y salud. OMS [consultado 23 may 2022]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>.
2. Hernández E, Martín F, Meza D, Hernández B, Martínez G, Espino V. Arsenic and lead in the soils of San Antonio–El Triunfo mining district, B.C.S., México: a human health risk assessment. *Environ Earth Sci.* 2022;81(42). [consultado 28 abr 2022]. <https://doi.org/10.1007/s12665-021-10137-3>.
3. Levine H, Jørgensen N, Martino A, Mendiola J, Weksler D, Mindlis I, et al. Temporal trends in sperm count: A systematic review and meta-regression analysis. *Hum. Reprod.* 2017; 23(6):646-59.
4. Gandhi J, Hernandez R, Chen A, Smith N, Sheynkin Y, Joshi G, et al. Impaired hypothalamic-pituitary-testicular axis activity, spermatogenesis, and sperm function promote infertility in males with lead poisoning. *Zygote.* 2017; 25(2):103-10.
5. Quintanilla B, Hoover D, Bal W, Silbergeld E, Waalkes M, Anderson L. Lead interaction with human protamine (HP2) as a mechanism of male reproductive toxicity. *Chem Res Toxicol.* 2000; 13(7):594-600.
6. Wdowiak A, Bakalczuk G, Bakalczuk S. Evaluation of effect of selected trace elements on dynamics of sperm DNA fragmentation. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczonej.* 2015; 69:1405–10.
7. Portella J, López R, Noriega L, Guzmán L. Modelo predictivo de fragmentación de ADN espermático usando parámetros evaluados en un espermatograma. *Rev Per Ginecol Obstet.* 2014; 60(1): 21-8.
8. National Institute of Occupational and Safety Health. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). Lead in blood and urine. Method: 8003, Issue 2. EE. UU.: Centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC, Departamento de Salud y Servicios Humanos Gobierno. 1994 [consultado 26/05/2022]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/8003.pdf>.

9. Organización Mundial de la Salud. WHO Laboratory Manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. World Health Organization; 2010. [consultado 23 may 2022]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44261>.
10. Fernandez J, Muriel L, Goyanes V, Segrelles E, Gosalvez J, Enciso M. Simple determination of human sperm DNA fragmentation with an improved sperm chromatin dispersion test". *Fertil Steril*. 2005;84(4):833-42.
11. Marzec U, Kamiński P, Łakota P, Bucinski A. Human sperm characteristics with regard to cobalt, chromium, and lead in semen and activity of catalase in seminal plasma. *Biol Trace Elem Res*. 2019;188: 251-60 (). <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1416-9>.
12. Ramírez, A. Exposición a plomo en trabajadores de fábricas informales de baterías. *An Fac Med*. 2008;69(2):104-7
13. Bilotta MC, Merodo P, Godoy A. Exposición a la Contaminación con Plomo en Taller de Ensamble de Baterías. *Cienc Trab*. 2013;15(48):158-64.
14. INSAT. Programa Nacional de Salud Ocupacional. Dirección de Salud Ambiental. Ministerio de Salud Pública; 2015.
15. Gottesfeld P, Pokhrel A. Review: Lead Exposure in Battery Manufacturing and Recycling in Developing Countries and Among Children in Nearby Communities. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 2011; 8(9):520-32.
16. Ibarra E, Múgica J, González RM, Jaime A, Gravalosa A, Cabrera C, Guevara ME. Valores de referencia de la concentración de plomo en sangre en la población en edad laboral de la Ciudad de la Habana. *Rev Cuba Salud Trabajo*. 2007;8(1):3-10.
17. Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *J Assist Reprod Genet*. 2009; 26(1): 41-6.
18. Ribas J, Garcia A, Fernandez A, Abad C, Amengual M, Prada E. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. *Andrology*; 2013(1):715-22.
19. Saleh R, Agarwal A, Sharma R, Nelson D, Thomas A. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 2002;78:491-9.
20. Sergerie M, Ouhilal S, Bissonnette F, Brodeur J, Bleau G. Lack of association between smoking and DNA fragmentation in the spermatozoa of normal men. *Hum Reprod*. 2000;15(6):1314-21.
21. Naha N, Manna B. Mechanism of lead induced effects on human spermatozoa after occupational exposure. *Kathmandu Univ Med J*. 2007;5(1):85-94.
22. Wu H, Lin-Tan D, Wang M, Huang H, Lee C, Wang H, Soong Y, Lin J. Lead level in seminal plasma may affect semen quality for men without occupational exposure to lead. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012; 10: 91.
23. Méndez Y, Báez F, Quintero A, Villamediana P. Efecto de la exposición in vitro de espermatozoides humanos a plomo. *Ciencia*. 2012; 20(1):5-11.
24. Viskum S, Rabjerg L, Jørgensen P, Grandjean P. Improvement in semen quality associated with decreasing occupational lead exposure. *American Journal of Industrial Medicine*. 1999;35(3):257-63.
25. Jeng A, Huang Y, Pan C, Diawara N. Role of Low Exposure to Metals as Male Reproductive Toxicants. *Int J Environ Health Res*. 2015; 25(4): 405–17.