

UČINCI OLOVA NA REPRODUKCIJU:
PREGLED PODATAKA DOBIVENIH ISPITIVANJIMA
U LJUDI I IZ POKUSA NA ŽIVOTINJAMA

M. Piasek

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Primljeno 23. XII. 1986)

U članku su izneseni noviji literaturni podaci o reproduktivnim učincima olova koji se opažaju u izloženih žena i muškaraca odnosno u izloženih ženki i mužjaka pokusnih životinja. Također je dan pregled ključnih rezultata studija kojima su se pokušali rasvijetliti mogući patogenetski mehanizmi učinka olova na ženske odnosno muške reproduktivske funkcije. Ukratko je izneseno teratogeno djelovanje olova. Istaknuto je značenje eksperimentalnih uvjeta istodobne i/ili istovjetne izloženosti životinja obaju spolova pri procjenjivanju relativnog maternalnog u odnosu na paternalno posredovan štetni učinak olova na plod. Izneseni su vlastiti rezultati jednogeneracijskih reproduktivskih studija na ženkama i mužjacima štakora. Na kraju je istaknuta nužnost utvrđivanja do danas još nedovoljno rasvijetljenih aspekata reproduktivske toksičnosti olova, kao što je značenje spola, razine i trajanja izloženosti te moguća reverzibilnost učinka olova u uvjetima, s jedne strane, sve većeg onečišćenja prirodnog okoliša, i, s druge strane, porasta broja žena koje se zapošljavaju u industrijskim postrojenjima gdje mogu biti izložene olovu.

Olovo je već stoljećima poznato kao opći metabolički otrov. Postoji velik broj podataka o štetnim učincima olova na krvotvorni, živčani, krvožilni, imunološki i sustav žlijezda s unutrašnjim lučenjem, na bubrežne i jetrene funkcije kao i na reprodukciju i razvoj (1, 2). Problem učinka olova na reprodukciju čovjeka star je koliko i čovjekovo iskorištavanje olova i njegovih spojeva. Zbog poželjnih svojstava (lako dobivanje iz ruda, dobra kovnost, otpornost na koroziju) olovo se odavno i naširoko upotrebljavalo, vjerojatno još od 3500. godine pr. n. e. u starom Egiptu (3). Često se navodi pretpostavka *Gilfillana* (4) da je jedan od mogućih razloga propasti Rimskog Carstva bilo kronično otrovanje olovom, pretežno bogatih slojeva društva, koje se očitovalo sve većom učestalošću duševne zaostalosti, povišene smrtnosti dojenčadi i neplodnosti. Osim pisanih svjedočanstava o navedenim pojavama, kao i o nekim običajima (npr. slađenje vina) pri čemu se upotrebljavalo olovo, na to upućuju nađeni olovni uporabni predmeti iz tog doba i visoke koncentracije olova u ostacima ljudskih kostiju.

Od vremena Starih Grka sve su se više spoznavali štetni učinci visokih koncentracija olova na zdravlje čovjeka koje su bile prisutne u radnoj okolini ili prirodnom okolišu i zgodimice pogađale pojedince odnosno cijela izložena područja. To se događalo zbog neznanja (onečišćena voda, vino, brašno i dr.) i/ili kao nepoželjna posljedica upotrebe olova u liječenju nekih bolesti, npr. pada-vice ili npr. sa svrhom izazivanja pobačaja (5, 6, 7).

Danas su slučajevi klasičnog akutnog trovanja olovom sporadični i, osim kad se radi o djeci, od manjeg značenja, jer se na vrijeme mogu prepoznati i uspješno izliječiti. Veći je interes usmjeren na trajnu izloženost nižim razinama olova koje je razasuto u cjelokupnom čovjekovom okolišu: u zraku, vodi i hrani, i može štetno djelovati na njegovo zdravlje. Neke studije procjenjuju da su tzv. prirodne razine olova u zraku dva do četiri reda veličine niže od vrijednosti koje se danas mogu izmjeriti na sjevernoj polutki Zemlje, a nastale su (i nastaju) kao rezultat oslobađanja ogromnih količina olova u atmosferu čovjekovim aktivnostima vađenja i prerade olova, naročito od vremena velike industrijske revolucije (8, 9).

Još ne tako davno se, osobito u zapadnim zemljama, smatralo da postoji granična vrijednost koncentracije olova u krvi koju je postavio *Kehoe* 1960. godine (10) a iznosila je 80 $\mu\text{g}/100\text{ mg}$ (ili ponekad 100 ml). Tvrdilo se da ispod tih vrijednosti plumbemije nema opasnosti od saturnizma odraslih osoba. Do te se brojke došlo na temelju iskustva iz istraživanja u profesionalno izloženih ljudi (11). U međuvremenu je do danas objavljeno dosta radova u kojima je pokazano da se klinički znakovi i simptomi trovanja olovom mogu pojaviti i u ljudi s nižim razinama olova u krvi (npr. 12).

S druge strane, štetni učinci olova na zdravlje čovjeka javljaju se i pri dozama koje nisu dovoljno visoke da izazovu klinički jasnu sliku saturnizma. Među takve supkliničke učinke olova ubraja se štetno djelovanje olova na reproduktivnu sposobnost čovjeka. Golemo značenje tog aspekta toksičnosti olova leži u činjenici da je pritom uključeno i djelovanje na zdravlje budućih generacija.

UČINCI OLOVA NA ŽENSKU REPRODUKCIJU

Već dugo je dobro poznato da žene izložene visokim razinama olova mogu imati poremećaje u menstrualnom ciklusu kao što su dismenoreja, amenoreja ili menoragije. Također može nastupiti period steriliteta odnosno smanjene plodnosti (13). Ako i dođe do zanošenja, vrlo je visok rizik od pobačaja, preranog porođaja i/ili mrtvorođenosti. Živorodena pak djeca su češće malena, slaba i sporo se razvijaju. Velik dio ih umire u prvim godinama života, a preživjela mogu biti mentalno retardirana (14, 15).

Paul je 1860. godine uočio povećanu stopu pobačaja i mrtvorođenosti u ženama teško otrovanih olovom i utvrdio da to ovisi o visini primljene doze, tj. stupnju otrovanosti žene (7). Godine 1911. *Oliver* (16) objavio je statističke podatke iz kojih se vidi da je u Britaniji stopa pobačaja i neonatalne smrtnosti bila povišena među ženama koje su nakon udaje bile zaposlene u tvornicama gdje su bile izložene olovu, u odnosu na radnice u mlinu ili, još više u odnosu na kućanice. Također je opazio da su žene osjetljivije u dobi od 18 do 23 godine. *Oliver* je, kao i neki drugi autori tada i kasnije, opisao teške poslje-

dice plumbizma u cijelim obiteljima keramičara u Mađarskoj, što je, osim neposredne izloženosti olovu roditelja odnosno djece, upućivalo i na transplacentarni prijenos olova od majke do fetusa.

U skladu s ovim spoznajama, od 1910. godine se pojavljuju zakoni i propisi koji zabranjuju rad ženama u industriji olova (14). U to vrijeme, na kraju prošlog i početku ovog stoljeća, u doba industrijske revolucije, žene su bile izložene vrlo visokim razinama olova, mnogo većim negoli su danas u modernim industrijskim postrojenjima. Pod tim uvjetima izloženosti olovo je nesumnjivo toksično djelovalo na plodnost, tijek trudnoće i razvoj fetusa, kako to pokazuju izvještaji iz tog razdoblja (7).

Osim štetne profesionalne izloženosti, u Britaniji je na početku ovog stoljeća bilo poznato i abortivno djelovanje tzv. olovnog melema koji se upotrebljavao sa svrhom da se dokrajči sumnjiva ili sigurna trudnoća. Godine 1905. Hall je opisao slučajeve tako izazvanih pobačaja, kod kojih je, međutim, osim željenog učinka, došlo i do plumbizma (7).

Mehanizmi štetnih reproduksijskih učinaka visokih razina olova u prošlosti i danas nisu poznati, ali se mogu pretpostaviti mnogi činioci koji tome pridonose. To su posredni učinci olova na prehranu majke, hormonalni status prije i za vrijeme trudnoće i neposredni štetni gameto, embrio i/ili fetotoksični i teratogeni učinci koji utječu na plodnost roditelja odnosno perinatalno preživljavanje ploda. Usto je trudnoća stanje stresa u kojemu je povišen rizik žene od trovanja olovom zbog veće sklonosti pomanjkanja kalcija i/ili željeza tijekom graviditeta i laktacije, a oba ta stanja povisuju apsorpciju i osjetljivost za olovo (15). U svjetlu svoje iz povijesti poznate uloge reproduksijskog otrova, olovo u novije vrijeme ponovno uveliko zaokuplja pažnju istraživača. Naime, s povećanim zapošljavanjem žena sve se veća pažnja usmjeruje na faktore rizika za njihovo zdravlje a usto i za normalni razvoj i preživljavanje njihovih potomaka (17).

Humani podaci

U današnje vrijeme velik se dio raspoloživih podataka o utjecaju olova na reprodukciju u žena odnosi na opise kliničkih slika pojedinačnih slučajeva plumbizma u trudnica, koji su imali za posljedicu jače ili slabije izraženu intoksikaciju ploda.

Tako su Angle i McIntire (14) opisale obiteljsku epidemiju kroničnog trovanja olovom putem inhalacije tijekom izgaranja oplata baterija koje su upotrebljavane za loženje u stanu. Među izloženim članovima obitelji bila je i trudnica u osmom mjesecu trudnoće koja je pokazivala znakove plumbizma (umor, abdominalne kolike, povišena plumbemija) i njoj su autorice aplicirale kelatni preparat CaEDTA (kalcijeva sol etilen-diamin tetraoctene kiseline). Nakon 4 tjedna ova je žena rodila normalno čedo bez vidljiva štetnog učinka olova ili primijenjene kelatne terapije. Rad ujedno predstavlja i prvi izvještaj o liječenju plumbizma trudne žene.

Singh i suradnici (18) prvi su izvijestili o slučaju živorođenog čeda s biokemijskim dokazima plumbizma zbog prenatalne izloženosti olovu. Majka djeteta bila je izložena olovu stružući naslage boje s kuće tijekom trećeg trimestra trudnoće. Za razliku od supruga koji je bio istodobno izložen i klinički

jasno otrovan, njezin je plumbizma bio asimptomatski unatoč relativno visokoj plumbemiji (40—60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) i visokim vrijednostima eritrocitnog protoporfirina (193 i 58 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). Kod majke je provedeno liječenje kelatom. Čedo je na rođenju također imalo povišenu plumbemiju (50 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) i povišen eritrocitni porfirin (297 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) i te su vrijednosti ostale visoke do trećeg tjedna života. Do tada nije bilo nikakvih drugih znakova intoksikacije djeteta. Nakon provedene kelatne terapije CaEDTA-om vrijednosti ovih parametara su se snizile. U dobi od 13 mjeseci djevojčica je pokazivala ispade u provedenim testovima razvoja djeteta.

Timpo i suradnici (19) opisali su prenatalnu izloženost olovu tijekom nekoliko posljednjih mjeseci trudnoće sedamnaestogodišnjakinje koja se klinički jasno otrovala jedući ljuske boje sa zida u stanu (olovni rub desni, boli u donjim udovima, plumbemija 86 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ i patološke vrijednosti biokemijskih parametara izloženosti olovu). Bolesnici je tijekom liječenja apliciran kelat CaEDTA i nakon osam dana je uslijedio porođaj normalnog zdravog čeda. Razina plumbemije u krvi pupkovine bila je 60 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Radiografska snimka dugih kostiju čeda je pokazala metafizitis, submetafizna prosvjetljenja i skleroza dijafiza. Osim nalaza na kostima i analiza kromosoma čeda upozorila je na štetne učinke olova. Liječenje djeteta kelatom provedeno je u dobi od 2 tjedna i potom s 3 mjeseca. U dobi od 7 mjeseci nisu više bile uočljive koštane nepravilnosti, a u dobi od 18 mjeseci nisu nađeni nikakvi neurološki i/ili psihomotorni ispadi.

Quazi i suradnici (20) također su opisali privremeno povećan broj kromosomskih aberacija i nenormalan radiološki nalaz dugih kostiju (metafizitis, submetafizna prosvjetljenja i skleroza dijafiza) u djeteta prenatalno izloženog visokim razinama olova. Nakon provedene kelatne terapije u dobi od 2 tjedna i 5 mjeseci nije više bilo navedenih promjena. U dobi od 18 mjeseci neuropsihijatrijski status djeteta je bio unutar normalnih granica.

U navedenim radovima je pokazano da prenatalna izloženost relativno visokim razinama olova ne mora dovesti do pobačaja, mrtvorodenosti ili drugih štetnih učinaka lako uočljivih u prvim godinama života djeteta. S druge strane, dokazi za nepovoljne posljedice na žensku reprodukciju kod klinički jasne slike trovanja olovom od male su pomoći pri utvrđivanju štetnog reprodukcijuskog učinka olova pri kroničnoj izloženosti žena i trudnica dozama koje za njih nisu još očito toksične, ali potencijalno štetno djeluju na funkcionalni integritet njihova potomstva (21).

Tako su *Nordström i suradnici* (22) našli da u žena kronično izloženih olovu (ali istodobno i nekim drugim toksičnim agensima) u okolici jedne švedske talionice postoji povišena stopa spontanih pobačaja. Isti su autori (23) utvrdili porast frekvencije spontanih pobačaja u žena zaposlenih u talionici tijekom trudnoće ili u onih koje su tamo bile zaposlene prije nego su zanijele a tijekom trudnoće su živjele u okolici talionice. Osim toga, u potomaka radnica iz iste talionice olova, kao i u dvije ispitivane populacije žena iz okolice talionice, nađene su značajno snižene porođajne težine djece (24).

Kod nas je *Šarić* (25) objavio rezultate retrospektivne studije učinka olova na stope spontanih pobačaja i blizanačkih porođaja u općini u kojoj se nalazi talionica olova, za razdoblje 1961—1980. godine. Prosječna godišnja stopa spontanih pobačaja u području s talionicom olova bila je 12/1000 prema

6,7/1000 fertilnih žena u kontrolnoj općini bez izvora izloženosti olovu. Kumulativna stopa rođenja blizanaca bila je u izloženoj općini 2,4/1000 prema 2,6/1000 stanovnika u kontrolnoj općini. Međutim, u područjima neposredno uz talionicu, kumulativna stopa blizanačkih porođaja tijekom 20 godina bila je 1,7/1000 prema 2,7/1000 stanovnika u preostalim dijelovima izložene općine. Zaključeno je da ovi rezultati upućuju na mogućnost djelovanja izloženosti olovu na reprodukciju.

Zene su inzultima iz vanjskog okoliša, bilo profesionalnog bilo ambijentalnog, izložene neposredno, dok je embrionski odnosno fetalni organizam izložen uvijek i samo putem majčina optoka krvi (26). Analize fetalnog tkiva su pokazale da prijenos olova kroz posteljicu čovjeka započinje oko 12. tjedna trudnoće i tijekom trudnoće njegov ukupni sadržaj u fetalnom tkivu raste. Najviše razine olova nalaze se u kostima, bubregu i jetri, a potom slijede koncentracije olova u krvi, mozgu i srcu (7). U krvi pupkovine nalazi se značajna količina olova, koja je, općenito, proporcionalno malo ali značajno niža od maternalnih vrijednosti olova u krvi. To upućuje na ulogu posteljice kao djelomične barijere na putu prijenosa olova od majke do fetusa (27—31).

Još 1860. godine *Paul* je otkrio da se olovo prenosi kroz posteljicu i time potencijalno ugrožava plod (32). No danas je još nepoznato koji se dio majčina olova i na kojem mjestu prenosi kroz posteljicu sisavaca. Pretpostavlja se da su u transplacentarnom prijenosu olova prisutna oba mehanizma prijenosa iona kroz opnu: i pasivna difuzija i aktivni transport (33).

Postoji velik broj radova u kojima je promatrana razina olova u krvi, tkivima i posteljici, kao i neki biokemijski pokazatelji izloženosti olovu, istodobno u majke i čeda. Tako su *Khera i suradnici* (30) našli, osim značajno visoke pozitivne korelacije vrijednosti olova u krvi djece i njihovih majki zaposlenih u tvornici lončarije, i povišene koncentracije olova u tkivu posteljica. One su bile to više što je bila duža profesionalna izloženost i viša dob žene. Također je nađena veća koncentracija olova u posteljicama radnica s mrtvorodenom djecom nego u posteljicama žena koje u posljednje dvije godine nisu bile profesionalno izložene olovu. Autori, međutim, nisu mogli odgovoriti da li je profesionalna izloženost uzrokovala bilo koji slučaj nađene mrtvorodenosti.

Alexander i Delves (34) pokazali su da su srednje koncentracije olova u krvi (PbB) kod žena koje žive u gradskom području u Engleskoj otprilike za 4 $\mu\text{g}/100$ ml više od vrijednosti u sličnoj skupini na selu ($P < 0,001$). Nije nađen nikakav vidljivi učinak povišene maternalne razine PbB na perinatalno zdravstveno stanje čeda. Opaženo je da se vrijednosti PbB tijekom trudnoće značajno snižavaju. Kao moguća objašnjenja te pojave autori navode pojačano odlaganje olova u posteljicu, pojačan prijenos olova u fetalna tkiva ili možda jače izlučivanje olova, npr. urinom. Povišene razine PbB u gradskoj populaciji žena, smatraju autori, odražavaju jaču onečišćenost ovog čovjekova okoliša olovom (industrijska postrojenja, ispušni plinovi vozila i dr.).

Kod nas su *Prpić-Majić i suradnice* (35) u skupini trudnica koje žive u okolini prije spomenute talionice olova (25) upozorile na pojavu porasta vrijednosti PbB tijekom trudnoće i sve do 16 tjedana nakon porođaja. Nasuprot ovoj pojavi, a u skladu s gore navedenim rezultatima *Alexandera i Delvesa* (34), u kontrolnoj skupini žena iz gradskog područja razine PbB tijekom trudnoće

imale su trend opadanja. Autorice su zaključile da opažene promjene u vrijednostima PbB mogu ovisiti o prije akumuliranom olovu u tijelu žene koje se tijekom graviditeta i laktacije mobilizira slično kao i kalcij iz kosti. U žena koje žive u području koje je jako onečišćeno olovom snižavanje razina PbB je vjerojatno prekriveno pojavom mobilizacije olova iz maternalnih tkivnih depoa. Istodobno izmjerene vrijednosti PbB u majke i čeda pokazivale su visoko značajnu logaritamsku korelaciju. Pri višim razinama PbB postojala je tendencija višim vrijednostima u novorođenčadi negoli u njihovih majki.

O problemu odlaganja olova u posteljicu i fetalna tkiva, o putu prijenosa olova od majke do čeda i uloji posteljice kao barijere u tom prijenosu Alexander je iznio slijedeća opažanja (36). Pokazao je da u normalne i zdrave djece nema značajne razlike između srednjih vrijednosti koncentracije olova izmjerenih s maternalne i fetalne strane tkiva posteljice. U mrtvorodenčadi i djece s letalnim kongenitalnim anomalijama srednje vrijednosti olova s fetalne strane posteljice bile su značajno više od onih na maternalnoj strani. To upućuje na zaključak da je olovo činilac koji pridonosi fatalnom ishodu trudnoće.

Angell i Lavery (37) pokušali su odrediti graničnu koncentraciju PbB u žena pri kojoj se javljaju neke komplikacije trudnoće, kao što je prerano porođaj ili prerano pucanje plodnih ovoja. Općenito se smatra da su navedene komplikacije uzrokom morbiditeta i mortaliteta u 75% slučajeva u perinatalnom periodu. U skladu s dobivenim rezultatima i podacima iz literature, autori su pretpostavili da bi kritična koncentracija PbB, od koje je povišena incidencija komplikacija u trudnoći, bila iznad 25 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Iako je i u ovom radu pokazana visoka korelacija između razina PbB majke i čeda, nije se pokazalo da posteljica ima ulogu barijere u prijenosu olova.

U vezi s navedenim rezultatima zanimljiv je i jedan raniji nalaz. Naime, Fahim i suradnici (28) opazili su da se olovo kod normalnih trudnoća odlaze u plodne ovoje u šesterostruko većoj količini nego u posteljicu, a kod pretermijskih porođaja je nađeno četverostruko veće odlaganje olova u plodne ovoje nego u posteljicu. Autori su pretpostavili da takvo nakupljanje olova u ovovima može sniziti koncentraciju kolagena i time uzrokovati njihovo prerano pucanje u porođaju, što može imati poznate nepovoljne posljedice za majku i/ili čedo.

Fetus je kao organizam koji se intenzivno razvija i raste naročito osjetljiv na trovanje olovom (38). Zato postoji izrazita potreba da se definiraju »sigurne« vrijednosti koncentracija maternalnog olova. »Bezazleni« unos olova majke može se zgodnije pokazati itekako štetnim za fetus. Također postoji pretpostavka da, kad se radi o olovu, i ne postoji granična koncentracija do koje je ono bez učinka (11).

Podaci iz pokusa na životinjama

Podaci dobiveni u pokusima na laboratorijskim životinjama pokazuju da je olovo i pri relativno niskim razinama izloženosti reprodukcijски otrov, na što kod ženskog organizma upućuju promjene na ovarijima, promjene u kemiji hormona, poremećaji u funkciji posteljice ili ugrožen rast i razvoj ploda, uključujući neurološki i razvoj ponašanja. Međutim, malo se zna o mehaniz-

mima tih učinaka. Njihova složenost i mnogostrukost upućuju na zaključak da postoji nekoliko vrsta toksičnog djelovanja i više ciljnih sustava na koje olovo djeluje (39).

Vermande-Van Eck i Meigs (13) pokazali su da je izloženost ženki Rhesus majmuna olovnom kloridu intravenski u tjednoj dozi od 10 mg tijekom prvog mjeseca i potom 20 mg tijekom idućih 7 mjeseci, osim kliničke slike otrovanja, dovela do značajnog sniženja estrogene aktivnosti. To se očitovalo prekidom menstrualnih ciklusa i gubitkom boje tzv. spolne kože. Mikroskopski, jajnici su pokazivali oštećenje primordijalnih oocita i značajnu inhibiciju rasta folikula, izostanak ovulacije i porast veziva. Reverzibilnost opisanih promjena, tj. povratak normalnog izgleda i funkcije jajnika, opažen je nakon otprilike 8 mjeseci od prekida izlaganja olovu. Autori su naveli da se može pretpostaviti kako se kliničke slike menstrualnih nenormalnosti i neplodnost u žena nakon izlaganja olovu mogu objasniti jednakim mehanizmima djelovanja. Jednako tako je moguća pojava normalne trudnoće u žena nakon uklanjanja iz okoliša u kojem postoji izloženost olovu.

Der i suradnici (40) injicirali su olovni acetat potkožno u dozi 100 μ g/dan tijekom 40 dana 21-dnevnim ženka štakora upravo odbijenim od sisanja. Izložene životinje su istodobno hranjene ili normalnom, ili hranom siromašnom proteinima (20 odnosno 4% proteina); jednako tako i kontrolne ženke. Kod ženki izloženih olovu i niskoproteinskoj hrani nije se ispoljilo otvaranje rodnice tijekom pokusa. U obje skupine ženki hranjenih s malo proteina nije opažen početak ciklusa estrusa, a u izloženih ženki na normalnoj hrani on je neregularno trajao. Kod obje skupine ženki izloženih olovu jajnici su bili značajno lakši od kontrolnih. Histološki pregled maternice pokazao je kod ovih ženki značajno smanjenje bujanja sluznice i žlijezda. Kod izloženih ženki koncentracija olova je npr. u krvi i jetri porasla 2,7 puta u odnosu na kontrolne vrijednosti, a kod onih na niskoproteinskoj dijeti 47 puta u krvi, odnosno 80 puta u jetri. Osim toga, kod posljednje je skupine postojala i 50%-tna redukcija demetilacijske enzimske aktivnosti u jetri. Ovi rezultati upućuju na važnost prehrane koja sadrži adekvatnu količinu proteina u prevenciji trovanja olovom, naročito u djece u razvoju, budući da pomanjkanje proteina pojačava kako toksičnost olovnog trovanja tako i osjetljivost laboratorijskih životinja na infekciju.

Ranije je dokazano da i nedostatak željeza (41) ili hrana sa smanjenim sadržajem kalcija (42) povisuju retenciju olova u mekim tkivima i kostima.

Iz rezultata svih navedenih pokusa može se zaključiti da kronično izlaganje visokim dozama olova može utjecati na spolni razvoj štakora i da se nakupljanje olova u organima uveliko povećava u uvjetima smanjenog sadržaja proteina, željeza, kalcija i nekih elemenata u tragovima u hrani.

Maker i suradnici (43) izlagali su olovu ženke miševa dviju vrsta u dozama 0,08 do 2% u hrani i 0,5 i 1% u vodi za piće (kao acetat) preko majke (*in utero* i tijekom dojenja) i potom neposredno do dobi od 60 dana. Nađeno je zaostajanje u tjelesnom rastu, razvoju mozga te spolnom i sazrijevanju ponašanja. Ženke su kasnije ispoljile nagon za parenjem, a one koje su bile jako retardirane ispoljile su taj nagon tek kad su dosegle tjelesnu težinu koju imaju kontrolne jedinke kada prvi put postanu skotne. U leglima ženki koje su bile tijekom razvoja izložene dozama 0,5% olova i više bio je veći mortalitet i sporije su se razvijale.

Grant i suradnici (44) također su izvijestili o zakasnjelom otvaranju rodnice u ženki štakora koje su bile izložene dozama olova od 25, 50 i 250 ppm u vodi za piće preko majke (*in utero* i tijekom dojenja) i potom neposredno nakon odbijanja od sisanja do dobi od 6 do 9 mjeseci. Značajno sniženje u tjelesnim težinama opaženo je tek na razini od 50 i više ppm olova, a ispod tih razina, osim navedenog, nije opaženo nikakvo drugo kašnjenje u razvoju.

Kimmel i suradnici (45) objavili su rezultate maternalne toksičnosti i perinatalnih učinaka koji nadopunjuju upravo spomenute rezultate učinka olova na postnatalni razvoj i dio su serije studija djelovanja dugotrajne izloženosti niskim razinama olova u štakora. Ženke štakora su izlagane olovu u vodi za piće u koncentracijama 0,5, 5, 25, 50 ili 250 ppm od vremena kad su odbijene od sisanja, tijekom 6–7 tjedana prije parenja i za vrijeme skotnosti i dojenja. Nije nađena statistički značajna razlika u potrošnji hrane i pića u bilo kojoj izloženoj skupini. Ženke izložene dvjema najvišim dozama pokazivale su značajno smanjenje rasta unutar 1–3 tjedna od početka izlaganja. Opaženo je također kašnjenje u otvaranju rodnice. Izlaganje ovim razinama olova nije štetno utjecalo na sposobnost začeća, nošenje normalnog legla do termina, okocenje mladunčadi, a također nije bilo ni resorpcija ploda, malformacija, niti povećanog ugibanja sisančadi. U skupini izloženoj najvišoj dozi olova bilo je značajno skraćeno vrijeme tijela ženskih potomaka. Maternalna toksičnost pojavila se u skupinama izloženim 25 ppm olova i više s istodobnom koncentracijom olova u krvi od najmanje 20 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

Mogući mehanizmi djelovanja olova na žensku reprodukciju

Rezultati navedenih studija (43, 44, 45) pokazuju da peri i/ili postnatalno izlaganje olovu može štetno djelovati na napredovanje puberteta te hipotalamo-hipofizno-ovarijalne funkcije u ženki laboratorijskih životinja. U ženki štakora početak puberteta normalno označavaju jasno uočljivi događaji: otvaranje rodnice i početak estrusnog ciklusa (u dobi od oko 5 odnosno 12 tjedana). Da bi se to dogodilo, jajnici moraju biti prethodno »aktivirani«, tj. postati osjetljivi na podraživanje gonadotropnim hormonima. Smatra se da to započinje povećanim nadolaženjem folikulostimulirajućih hormona (FSH) u dobi od oko 15 dana. U radovima u kojima je opaženo zakasnjelo otvaranje rodnice možda se radi o zakasnjeloj funkciji estrogene sekrecije ovarija zbog štetnog djelovanja olova na jednoj od razina neuroendokrine regulacijske osovine.

Patohistološki nalaz atrofije jajnika u izloženih odraslih ženki majmuna (13) odnosno štakora (46) osim mogućnosti da odražava neposredno djelovanje olova na gonade, navodi na pomisao da se i tu radi o toksičnom djelovanju na neuroendokrini osovinu hipotalamus-hipofiza-jajnici-sluznica maternice (7).

Općenito se može reći da se čini kako je djelovanje olova na centralne neuroendokrine procese vjerojatno činilac koji doprinosi sniženju reprodukcijske sposobnosti bez obzira na to da li su gametotoksični učinci detektibilni ili nisu (47).

Da bi došlo do trudnoće, potrebno je zajedničko normalno funkcioniranje hipotalamusa, hipofize, jajnika, jajovoda i maternice. Za uspješno dovršenje

reprodukcije s rađanjem živog i normalnog potomka nuždan je još kompleksniji niz združenih zbivanja koja uključuju cjelokupni organizam majke. Jajnici kao »spremište« oocita i ujedno izvor hormona (estrogena i progesterona) koji reguliraju razvoj i funkcioniranje spolnih organa, igraju glavnu ulogu u plodnosti i započinjanju uspješne trudnoće (48).

Prije negoli se utvrdi trudnoća kod žene, dogodile su se i uspješno završile: gametogeneza, oplodnja, brazdanje, blastulacija i implantacija oplođene jajne stanice. Olovo može štetno djelovati u bilo kojoj od ovih vrlo ranih faza razvoja, a konačni (i u ljudi i jedini mogući) uočljivi rezultat će biti smanjen broj potomstva u populaciji.

Mehanizmi djelovanja olova na razvoj i sudbinu oplođene jajne stanice proučavani su na miševima jer je implantacija kod ove vrste vrlo slična onoj u čovjeka. Nađeno je da su embriji miša koji su preko svoje majke bili izloženi različitim koncentracijama olova u hrani (0,125 do 1%) bili sposobni doseći fazu blastociste, ali je postojalo zakašnjenje u staničnoj diobi (49). Poslije se pokazalo da je u stadiju blastociste embrija olovom trovanih mišica izostala diferencijacija trofoblastnih gigantskih stanica kao i decidualna reakcija maternice (50). Zaključeno je da je tome uzrok nedostatak endogenog progesterona kod majki izloženih olovu.

Pokazalo se da visoke doze olova (injekcija 1 mg olovnog klorida intravenski skotnim mišicama) inhibiraju implantaciju blastociste u sluznicu maternice (51). U *in vitro* mediju bez olova takva je blastocista postala sposobna za implantaciju, odnosno naknadno je dodavanje rastućih koncentracija olova u medij tu sposobnost smanjivalo (52). Kao mogući patogenetski mehanizmi inhibicije implantacije navedeni su: štetno djelovanje olova na neke enzime koji sudjeluju pri trofoblastnom pripajanju blastociste (52) i/ili negativan utjecaj olova na stimulirajuće djelovanje steroidnih hormona jajnika na sluznicu maternice (53). Potonja hipoteza je testirana davanjem 1 mg progesterona i 0,1 μ g estrogena u supkutanoj injekciji skotnim mišicama, nakon čega su u skupini prethodno olovom tretiranih ženki opažene uspješne implantacije u jednakoj učestalosti kao i kod kontrolnih ženki (54).

Smatra se da je maternica moguće mjesto djelovanja olova. Kod ženki miševa tretiranih olovom nađen je značajno povećan broj uterinih estradiol-receptora u citosolu (55). Autori su naveli nekoliko mogućih objašnjenja za takav nalaz a u svjetlu mehanizma olovne inhibicije implantacije. U prvom redu su pretpostavili do pojava povećane aktivnosti estradiol-receptora možda rezultira pojačanom estrogenom stimulacijom maternice, a za takve je uvjete poznato da mogu inhibirati implantaciju (kontracepcija). Druga je mogućnost da sniženje razine progesterona inducira porast aktivnosti estradiol-receptora i istodobno uzrokuje poremećaj implantacije zbog nedostatka normalne gestagene transformacije endometrija u vrijeme implantacije. Treća je mogućnost da olovo djeluje na centralnu neuroendokrину regulaciju funkcija ženskog spolnog aparata, kako je to nađeno u radu *Petrusza i suradnika* (47), pa je, u skladu s tim, opaženi porast broja uterinih estradiol-receptora možda odražavao neizravni učinak olova na hipotalamus, hipofizu ili jajnike.

Usporeni rast i razvoj fetusa koji se može opaziti tijekom kasnijih faza gestacije može biti rezultat inhibicije sinteze fetalnog hemoglobina (56, 57) i/ili djelovanja na protok krvi kroz posteljicu i prijenos supstrata do fetusa (58).

Kako je već rečeno, olovo može prolaziti kroz posteljicu i vjerojatno su učinci olova na razvoj ploda uzrokovani neposrednim toksičnim djelovanjem na embrij. Izuzetak je, vjerojatno, poremećena implantacija gdje mogu biti prisutni činioci od strane organizma majke (59).

UČINCI OLOVA NA MUŠKU REPRODUKCIJU

Olovo spada među najranije poznate spermicidne agense za što se, uz njegovo aborativno i teratogeno djelovanje, mogu naći dokazi još u staroj grčkoj i rimskoj civilizaciji (4). U literaturi se većina podataka iz studija u ljudi i pokusa na životinjama odnosi na štetno djelovanje olova na žensku reprodukciju, no postoje dokazi da ono može imati štetne učinke i na mušku reprodukciju, sposobnost. Također postoje dokazi da se neki od učinaka koje olovo ima na druge biološke sustave mogu štetno odraziti na muške reprodukcijske organe, odnosno na njihovu funkciju (60).

Rezultati štetnog djelovanja metala na mušku reprodukciju jesu: nenormalna sperma, neplodnost, spontani pobačaj, rana ili kasna fetalna smrt, mrtvorodenost, prematuritet, porođajne traume, snižena porođajna težina, postmaturitet, povišen morbiditet u djetinjstvu te malignitet u ranoj dobi. Ovi se učinci mogu studirati dobro uhodanim testovima na laboratorijskim životinjama, ili epidemiološkim studijama kojima se procjenjuju učinci na izloženu populaciju muškaraca.

Djelovanje olova na muške reprodukcijske funkcije može polučiti učinke koji imaju različito zdravstveno značenje. Tako djelovanjem na potenciju i sposobnost ejakulacije može biti ugrožena sposobnost pojedinca da uživa u normalnom spolnom životu. S druge strane, olovo ne mora djelovati na virilitet, ali može prouzročiti neplodnost muškarca. I konačno, paternalna izloženost olovu može izazvati promjene u potomstvu (61).

Olovo može djelovati izravno na muške reprodukcijske organe pri čemu ciljna mjesta mogu biti: krvno-testikularna barijera (koju uglavnom čine Sertolieve stanice), Leydigove stanice, krvne žile testisa, različiti stadiji stanica u spermatogenezi i akcesorne spolne žlijezde (epididimis, prostata, sjemeni mjehurići). Budući da muški reprodukcijski organi imaju složenu neuroendokrinu regulaciju, štetno djelovanje olova na bilo kojem mjestu hipotalamo-hipofizno-testikularne regulacijske osovine će dovesti, posredno, do poremećaja u muškim reprodukcijskim organima i njihovim funkcijama. U neizravno djelovanje olova na mušku reprodukciju spada i potencijalno djelovanje na nervnu kontrolu erekcije i ejakulacije (61).

Za neke od navedenih mogućnosti djelovanja olova na mušku reprodukciju postoje manje-više sigurni dokazi, no za mnoge od njih tek treba naći prave odgovore. To se posebice odnosi na mehanizme tih djelovanja te razinu olova i dužinu izlaganja pri kojima dolazi do štetnog učinka na mušku reprodukciju sposobnost.

Humani podaci

Prvi literaturni podaci o toksičnom učinku olova na zametne stanice mužjaka sisavaca pojavljuju se 1850. godine u opisu *De Quatrefagesa* (60), otprilike

u isto vrijeme kad i opis Paula o čestim pobačajima i mrtvorodenosti u radnica izloženih pri radu visokim razinama olova (14). *Oliver* (16) daje sumarni prikaz kliničkih podataka o štetnim učincima olova na reprodukciju i embrionalni razvoj čovjeka i navodi niz primjera gdje su povećana stopa pobačaja, mrtvorodenost i smanjeno preživljavanje djece opaženi ne samo kad je olovu bila izložena majka već i u parova u kojima je otac bio profesionalno izložen olovu.

Epidemiološke studije o učinku olova na reprodukciju u muškaraca novijeg su datuma. U posljednja tri desetljeća istraživani su učinak olova na muški endokrini i reproduksijski sustav i njihove funkcije. Tako je *Nogaki* (62) u radnika koji rade na pročišćavanju olova našao sniženu plodnost i dvostruko više pobačaja u njihovih supruga nego kad su supruzi bili neizloženi. Ti nalazi nisu bili u korelaciji niti s vrstom posla niti s razinom olova u krvi (nađeni raspon vrijednosti bio je 11 do 31,7 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). Zanimljiv nalaz ovdje je bio veći broj novorođenih dječaka nego djevojčica, što je bilo naročito izraženo kod očeva s višom razinom olova u krvi.

Lancranjan i suradnici (63) proučavali su učinke dugotrajne profesionalne izloženosti olovu u tvornici akumulatora na reproduksijsku sposobnost radnika. Utvrdili su asteno, hipo i teratospermiju ovisnu o dozi apsorbiranog olova, što je upućivalo na oštećenje spermatogeneze. Osim hipofertiliteta anamnestički su utvrđeni poremećaji u vezi s erekcijom, ejakulacijom, libidom i orgazmom kod skupine radnika s većom asporcijom olova, ali im incidenca, izgleda, nije bila ovisna o dozi primljenog olova. Normalan nalaz ukupnih gonadotropina i 17-ketosteroida u 24-satnom urinu pokazao je da se radi o neposrednom toksičnom učinku viših doza olova na testise.

U 94% pregledanih ljudskih testisa, čak i kada nije postojala profesionalna izloženost, nađeno je olova (64). *Plechaty i suradnici* (65) prvi su mjerili koncentraciju olova istodobno u spermi i krvi zdravih muškaraca u dobi od 19 do 41 godine, koji nisu bili profesionalno izloženi olovu. Vidjelo se da su razine olova u spermi općenito niže nego u krvi ($5,9 \pm 2,7$ prema $13,1 \pm 3,5$ $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) te da ne postoji nikakva značajna korelacija ni između tih dviju vrijednosti ni između razine olova i broja spermija. *Molinini i suradnici* (66) prvi su pak mjerili koncentraciju olova u sjemenu radnika izloženih olovu u tvornici akumulatora i te vrijednosti, zajedno s još nekim biološkim pokazateljima izloženosti olovu, uspoređivali s odgovarajućom kontrolom. U spermi radnika izloženih olovu nađena je značajno viša koncentracija olova i značajan pad u gustoći spermija. Ova dva učinka nisu bila u međusobnoj korelaciji a ni s razinom olova u krvi.

Braunstein i suradnici (67) istraživali su hipotalamo-hipofizno-testikularnu funkcionalnu osovinu u muškaraca kronično profesionalno izloženih u talionici olova, koji su bili upućeni na pregled zbog spolnih i reproduksijskih disfunkcija. Nađena su oštećenja i u centralnoj regulaciji testikularnih androgena (normalna sekrecija LH), i izravno oštećenje spermatogeneze što je rezultiralo oligospermijom i fibrozom testisa.

Nordström i suradnici (23) utvrdili su kod radnica u talionici olova višu stopu pobačaja ako su i njihovi supruzi bili profesionalno izloženi olovu. Budući da se taj učinak ispoljio tek u njihovoj trećoj ili još kasnijoj trudnoći, to navodi na zaključak da je učinak bio povezan s dugotrajnom izloženošću muških zametnih stanica.

Cullen i suradnici (68) detaljno su evaluirali endokrinološke funkcije u sedam dobrovoljaca, prosječno starih 35 godina, koji su bili liječeni zbog simptomatske akutne ili kronične olovne intoksikacije. U trojice pacijenata nađena je poremećena tiroidna funkcija, a u šestorice je opažena subnormalna glukokortikoidna produkcija, obje centralnog porijekla. Svi su pacijenti imali normalnu koncentraciju testosterona u serumu, ali je u petorice nađen smanjen broj spermija u ejakulatu. Taj je nalaz uključivao dva slučaja oligospermije i dva azospermije s povišenom razinom folikulostimulirajućeg hormona (FSH). Nakon provedene kelatne terapije djelomično su se poboljšali potonji malazi. Zaključeno je da obilna profesionalna izloženost olovu, koja je dovoljna da uzrokuje klinički jasno otrovanje, može biti povezana s difuznim poremećajima endokrinih i reprodukcijских funkcija u muškaraca a koje nisu brzo reverzibilne na uobičajeno liječenje kelatom.

Većina epidemioloških studija o muškim endokrinim i reprodukcijским funkcijama učinjena je u uvjetima visoke razine olova, mahom u profesionalnom okolišu i u osoba s jasno izraženim simptomima trovanja. Pitanja koja i nadalje ostaju otvorena jesu da li i umjerene i suptoksične razine olova dovede do opisanih fenomena štetnog djelovanja olova na muške reprodukcijske organe. Dosadašnji podaci još ne dopuštaju konačne zaključke iako se već ponešto naslućuje. Tako su *Wildt i suradnici* (69) proveli epidemiološku studiju na radnicima u tvornici akumulatora, koji su u svojoj radnoj okolini bili izloženi, prema švedskim propisima, umjerenim razinama olova. Učinjene analize ejakulata u dvjema skupinama ispitanika s prosječnim koncentracijama olova u krvi od 45 odnosno 22 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ nisu pokazala klinički značajne promjene i izgleda da nije bilo nikakvog učinka na plodnost ovih muškaraca. Nađene su samo fine promjene koje upućuju na mogući učinak olova na funkcije izlučivanja akcesornih spolnih žlijezda i na dozrijevanje spermija. Funkcionalno značenje ovih promjena nije poznato.

Podaci iz pokusa na životinjama

U literaturi ima sve više izvještaja da izloženost mužjaka laboratorijskih životinja toksičnim agensima rezultira nepovoljnim učincima na njihovo potomstvo. Kao mogući paternalno posredovani učinci navode se smanjenje veličine legla, sniženje težine tek okočene mladunčadi, skraćenje preživljavanja i smanjena sposobnost učenja mladunčadi (7).

Godine 1914. *Cole i Bachhuber* (70) prvi su eksperimentalno dokazali paternalne učinke trovanja olovom na kunićima i kokošima. U njihovoj studiji su legla ženki kunića, koje su oplodili mužjaci otrovani kapsulama olovnog acetata, bila mnogo manja i vitalnost potomstva očito slabija u odnosu na kontrolu. Do sličnog su rezultata došli i u pokusu s kokošima.

Varma i suradnici (71) davali su mužjacima miševa 2% -tni olovni subacetat u vodi za piće tijekom 28 dana prije rasploda. Ti su se mužjaci parili s netretiranim ženkama u toku 6 tjedana, svaki s ukupno 18 ženki (omjer 1:3) i za to vrijeme više nisu izlagani olovu. Sve ženke su žrtvovane između 13. i 15. dana nakon parenja. Tako se utvrdilo da je plodnost izloženih mužjaka (ukupna incidencija graviditeta) bila gotovo upola manja nego u kontrolnih i da je indeks mutagenosti (broj ranih fetalnih ugibanja prema ukupnom broju implantaci-

ja) u 3. i 6. tjednu bio viši kad se radilo o mužjacima izloženim olovu. Prosječan broj implantacija po jednoj ženki nije se razlikovao između izložene i kontrolne skupine, što upućuje na to da nije bilo preimplantacijskih gubitaka oplodjenih jajnih stanica.

Eyden i suradnici (72) istraživali su učinak dugotrajnog unosa olovnog acetata u hrani (0,1 do 4,0%) mužjacima miševa. Opazili su sniženje srednjih vrijednosti preživljavanja i njihovu ovisnost o razini olova. Kod koncentracije od 1% olova opažen je gubitak tjelesne težine i, nakon 8 tjedana izlaganja, značajan porast nenormalnih spermija i smanjenje njihove pokretljivosti. Kod miševa izlaganih 0,1%-tnom olovu nije nađena snižena plodnost ni nakon 64 tjedna izlaganja.

Krasovskij i suradnici (73) proveli su studiju o biološkim učincima kratkotrajne (20 do 30 dana) i dugotrajne (6 do 12 mjeseci) izloženosti olovu (acetat) bijelih štakora koncentracijama 0,05, 0,005 i 0,0015 mg/kg oralno. Na najvišoj dozi olova opažen je gonadotoksični učinak koji se odražavao u promjeni funkcionalnog stanja spermija (smanjena pokretljivost i vrijeme kretanja te snižena osmotska stabilnost spermija). Također su opažene distrofične promjene u Leydigovim stanicama i manji poremećaji u propusnosti žila testisa. Dugotrajna izloženost olovu je na najvišoj dozi olova uzrokovala poremećaj u spermatogenezi, što se odrazilo u sniženju indeksa spermatogeneze i značajnom sniženju prosječnog broja spermatogonija na obje više doze olova. Patohistološki nalaz testisa pokazao je neke morfološke promjene (bubrenje sjemenskog epitela i nagomilanu krv u vaskularnim mrežastim prostorima). Iz navedenih podataka nije jasno da li se ovdje radilo o neposrednom učinku olova na testise ili su to bili tek sekundarni učinci zbog sistematskog metaboličkog poremećaja.

Poznato je da mnogi metali, ako se neposredno injiciraju u testis, dovode do djelomične ili potpune nekroze testisa a među njima je i olovo (64). *Ghelberg i Bordas* (74) pokazali su da testisi mužjaka bijelog štakora, koji su primili 8,5 mg/kg olovnog acetata intraperitonealnom injekcijom, imaju poremećenu strukturu i smanjenu veličinu sjemenskih kanalića, pokazuju odvajanje sloja zametnih stanica od bazalne membrane, lezije spermatida i spermatocita te laganu edematoznu disocijaciju u intersticiju. Skupina tretiranih mužjaka, koja je 3 tjedna prije žrtvovanja primila natrijev aspartat, nije pokazivala nikakve patološke promjene u testisima. To upućuje na zaštitni učinak ove aminokiseline prema toksičnom učinku olova na testise.

Ivanova-Čemišanska i suradnice (75) izlagale su mužjake bijelog štakora olovnom acetatu u vodi za piće u dozama 0,2 i 20 mg/kg tijekom 4 mjeseca. Autorice navode promjene u enzimskoj aktivnosti homogenata testisa štakora tretiranih višom dozom olova (pad aktivnosti alkalne fosfataze i citokrom-oksidade, sniženje testikularne razine ATP i sulfhidrilnih skupina). Također je, navodno, nađen snižen indeks fertiliteta i smanjena pokretljivost spermija bez patohistoloških promjena testisa. Potomci ovih mužjaka su pokazivali zaostajanje u rastu i zakržljalost u prvom i trećem tjednu života te promjene u ponašanju, osnovnim enzimskim sustavima i u crvenoj krvnoj slici, u smislu anemije. U ovom radu, kao i u novijoj multigeneracijskoj studiji (76), u kojoj su promatrale učinke na potomcima očeva izlaganih navedenim koncentracijama olova, autorice zaključuju da dugotrajna profesionalna izlože-

nost olovu može u muškaraca predstavljati stvarnu ili moguću opasnost od oštećivanja gonada odnosno rizik za njihovo potomstvo.

U dijelu opsežne studije učinaka kronične izloženosti niskim dozama olova na F_1 - generaciju štakora *Fowler i suradnici* (77) obradili su, između ostalog, i učinke na reproduksijski sustav. Analiza sjemena muških potomaka koji su od vremena odvajanja od majke izlagani jednakim koncentracijama olova (acetat) u vodi za piće kao i majke (0,5, 5,0, 25, 50 i 250 ppm) provedena je nakon njihova žrtvovanja u dobi od oko 6 ili 9 mjeseci. Ni u jednoj izloženoj skupini nije opažen značajan učinak olova na broj normalnih i nenormalnih spermija u odnosu na kontrolne vrijednosti.

Osim učinaka koje ima na sisavce, pokazalo se da olovo djeluje štetno i na reproduksijski sustav npr. ptica. Tako su *Kendall i Scanlon* (78) proveli pokus na grlicama, koje su u vodi za piće izlagane olovu u koncentraciji od 100 ppm tijekom dva tjedna prije i u toku samog ciklusa parenja. Između ostalog, opazili su sniženje težina testisa u izloženih mužjaka ($P < 0,05$), u kojih je također postojala i tendencija snižavanja broja spermija. Nije opaženo produženje vremena potrebnog za stvaranje jaja, ni poremećaji u stvaranju i plodnosti jaja.

Mogući mehanizmi djelovanja olova na mušku reprodukciju

Patogenetski mehanizmi učinka olova na muške reproduksijske organe nisu poznati iako već ima dokaza za neke mogućnosti koje su se donedavno tek naslućivale.

Golubović i suradnici (79) našli su značajno sniženje razine ribonukleinske kiseline u testisima mužjaka štakora koje su tijekom 20 dana tretirali olovom u dozi od 20 mg/kg/dan oralno. Autori su pretpostavili da su opažena oštećenja testisa (degeneracija spermatogonija i deskvamacija zametnog epitela sjemenskih kanalića) u vezi sa smanjenom aktivnošću ribosoma i, posljedično tome, poremećenom sintezom proteina. Kao što je već prije spomenuto, *Ivanova-Čemišanska i suradnice* (75, 76) također su pronašle neke biokemijske promjene u homogenatu testisa štakora tretiranih olovom (smanjena aktivnost alkalne fosfataze, citokrom-oksidaze, sulfhidrilnih skupina i ATP, a povišena aktivnost kisele fosfataze).

U prije spomenutoj studiji *Krasovskij i suradnici* (73) su u testisima štakora kronično izloženih olovu, uz opisane patohistološke promjene, opazili i sniženje aktivnosti nekih oksidaznih enzima u sjemenskom epitelu, kao i smanjen sadržaj ribonukleinske kiseline i sulfhidrilnih skupina u intersticiju testisa.

Uz ove, također prije spomenute, studija *Ghelberga i Bordasa* (74) pretpostavlja izravni učinak olova na testise, dok su *Hilderbrand i suradnici* (80) opazili patohistološke promjene u testisima štakora izloženih olovu samo u mužjaka štakora čija je razina olova u krvi bila $50 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Istovjetna je i pretpostavka o neposrednom djelovanju subletalnih doza nekih teških metala na gonade riba. *Kumar i Pant* (81) opazili su da olovo (nitrat) dano u vodi izaziva dilataciju krvnih kapilara, te nekroze i dezintegraciju sjemenskog epitela u testisima izlaganih riba.

Chowdhury i suradnici (82) su kod štakora izloženih olovu u vodi za piće u koncentraciji 1000 ppm tijekom 60 dana opazili testikularnu atrofiju, sniženje težine testisa, dezintegraciju zametnog epitela u sjemenskim kanalici- ma, inhibiciju spermatogeneze i smanjenje Leydigovih stanica. Istodobno nađene povišene vrijednosti kolesterola pokazale su da se on smanjeno upo- trebljava u sintezi testosterona u atrofičnim Leydigovim stanicama. Autori su pretpostavili da bi olovo moglo inhibirati spermatogenezu u premejotičnoj fazi zbog nedostatka testosterona.

Zirkin i suradnici (83) su u mužjaka štakora izloženih koncentracijama olo- va (acetat) od 4000 i 8000 ppm u vodi za piće tijekom 130 dana utvrdili ste- reološkim analizama smanjenje broja i volumena Leydigovih stanica u testisu. Na dozi od 8000 ppm olova opažen je i smanjen broj njihovih citoplazmatskih organela, odgovornih za normalnu produkciju testosterona (glatki endopla- zmatski retikulum i unutarnje membrane mitohondrija). U skladu s tim je, pri *in vitro* perfuziji testisa, na najvišoj dozi olova opaženo sniženo izlučivanje testosterona. Međutim, i na toj razini izloženosti olovu nije još bilo vidljiva učinka na plodnost mužjaka, težinu njihovih testisa i prostata, kao ni na broj spermija u testisima.

Danas je poznato da se olovo može naći u testisima i normalnih muškaraca i normalnih mužjaka životinja u sjemenskim kanalici- ma, uz unutrašnji rub njihova lumena, na repovima spermija, u mišićnim stanicama testikularnih krvnih žila i ponekad u mastocitima (60, 64).

Smatra se da olovo, iako ulazi u testise kroz krvno-testikularnu barijeru, vjerojatno ne izaziva neposredno degeneraciju testikularnih struktura i pri- družinih spolnih žlijezda kako je to dokazano kod nekih drugih teških me- tala. Opisane promjene u morfologiji spermija viđene nakon izlaganja labo- ratorijskih životinja (npr. 72) odnosno kod profesionalno izloženih ljudi (63) najvjerojatnije su odraz opće citotoksičnosti olova a ne mutagenog djelovanja jer je dokazano da olovo nema ni mutageno, ni klastogeno djelovanje (84). To potvrđuju i rezultati dominantno-letalnog testiranja i ispitivanja teratogeno- sti olovnog acetata i tetraetilnog olova na miševima. *Kennedy i suradnici* (85) parili su netretirane ženke s mužjacima miševa koji su bili izlagani navede- nim spojevima olova i nisu našli dominantnu letalnost u mejotičnim i post- mejotičnim muškim zametnim stanicama čak ni nakon davanja maksimalno podnošljivih doza.

U novije vrijeme *Wiebe i suradnici* (86, 87) istraživali su *in vivo* i *in vitro* mehanizam djelovanja olova na sintezu steroidnih hormona i receptore gona- dotropnih hormona u testisima štakora. U ranijoj *in vivo* studiji (86) tretirali su skotne ženke štakora supkutanim injekcijama olovnog acetata, počevši od 9. dana gestacije, svaka 3 do 4 dana, tijekom cijelog perioda graviditeta i laktacije. Testisi dvotjednih ili trojtjednih muških potomaka izloženih majki bili su normalno teški, promjeri sjemenskih kanalića u granicama očekiva- nih, no dobiveni homogenati testisa imali su sniženu sposobnost pretvorbe progesterona u različite steroidne metabolite. Ovi podaci, kao i direktna spektrofotometrijska analiza, upozorili su na sniženje aktivnosti ključnih enzima za sintezu steroidnih hormona u Sertolievim stanicama testisa. Osim toga, pokazalo se da je značajno snižena i sposobnost vezanja folikulostimu- lirajućeg hormona hipofize (FSH) za njegove receptore na membrani spome- nutih stanica u testisima.

U idućoj, *in vitro* studiji, *Wiebe i suradnici* (87) pokazali su na izoliranim Sertolievim stanicama testisa prepubertetnih štakora da olovo u muškim gonadama može djelovati izravno suprimiranjem aktivnosti enzima koji sudjeluju u steroidogenezi (neposredni učinak), kao i neizravno smanjenjem sposobnosti vezanja hormona FSH za receptor što posredno dovodi do snižene produkcije cikličkog AMP i smanjene steroidogeneze (dugotrajni učinak). U neposrednoj vezi s poremećenom sintezom steroidnih hormona u Sertolievim stanicama jest odgađanje početka i/ili smanjena spermatogeneza. U osnovi neizravnog (dugotrajnog) učinka olova na testise vjerojatno leži inhibicija sinteze specifičnih proteina (enzima steroidogeneze i/ili FSH-receptornih proteina). Ovo su, ujedno, i prvi rezultati o biokemijskim događajima u testisima na koje olovo, čini se, štetno djeluje.

Ovdje bi još trebalo istaknuti slijedeću činjenicu. Vrijednosti koncentracija olova u krvi ne moraju uvijek biti istinski pokazatelji osjetljivosti na trovanje olovom. Nedavno su *Raghavan i suradnici* (88, 89) u hemolizatima eritrocita radnika profesionalno izloženih olovu identificirali protein niske molekularne težine (oko 10.000 daltona) koji veže olovo i tako, izgleda, odvaja olovo u netoksični oblik. Autori su pokazali da je tako vezano olovo u eritrocitima bilo najniže u ispitivanoj skupini izloženih radnika koji su pokazivali jasne znakove trovanja uz istodobno relativno niske ukupne razine olova u krvi. Pretpostavlja se, dakle, da profesionalno izloženi ljudi, koji imaju smanjenu sposobnost sinteze takvog proteina koji veže olovo, spadaju u skupinu s povišenim rizikom za razvoj trovanja olovom i pri relativno niskim koncentracijama olova u krvi. Ovaj protein se inače ne nalazi u neizloženih osoba i nestaje nakon provedene kelatne terapije otrovanih olovom. Kod izloženih radnika, koji imaju smanjenu količinu eritrocitnog proteina što veže olovo, ono će se u eritrocitu podijeliti između odjeljka frakcije s visokom molekularnom težinom (sadrži važne enzime, kao npr. ALAD) i tzv. membranske frakcije eritrocita (sadrži enzim Na/K ATPazu). Pod tim uvjetima olovo će, kako je dokazano, djelovati inhibitory na aktivnost važnih enzima koji se tu nalaze.

TERATOGENO DJELOVANJE OLOVA

Pri evaluaciji štetnih učinaka olova na razvoj čovjeka korisne su i tzv. studije teratogenosti koje se provode kako na sisavcima tako i na pticama i nižim kralješnjacima. Opažaju se podjednaki učinci u smislu usporavanja fetalnog i postnatalnog rasta te embrionsko i/ili fetalno ugibanje (59). Kao posljedica izlaganja visokim razinama olova parenteralnim unosom u ptica i glodavaca dokazano je i takvo štetno djelovanje koje rezultira fizičkim nedostacima i nenormalnostima, tzv. teratogeni učinak olova.

Teratogeni učinci olova na kostur opaženi su na hrčku (32), štakoru (90, 91) i mišu (92) kada su majke parenteralno tretirane olovom 8-9. dan gestacije. *Ferm i Ferm* (93) pokazali su da je nakon intravenske primjene različitih soli olova u dozama 25 ili 50 mg/kg težine kod zlatnog hrčka 8. dan gestacije došlo do posljedičnog povećanja resorpcije embrija i stope malformacija. Teratogeni učinak je bio ograničen na područje repa i uključivao malformacije sa-

kralnog i kaudalnog dijela kralješnice. To se ispoljavalo u različitim stupnjevima zakržljalosti do potpune odsutnosti repa. Slabije izražene malformacije bile su kompatibilne sa životom i u nekoliko tako promijenjenih životinja se činilo da nema štetnog učinka na plodnost. Majke ovih potomaka nisu pokazivale znakove trovanja olovom. Zaključeno je da olovo ima organ-specifično teratogeno djelovanje, ovisno o primijenjenoj dozi i o fazi embriogeneze hrčka u kojoj je administrirano.

O sličnom je učinku olova kod hrčka izvijestio Gale (94) koji je osim toga vidio i hidrocefalus.

Minsker i suradnici (95) opisuju sniženje težine pri okoćenju i smanjenu stopu preživljavanja kod potomaka ženki štakora kojima je 7. dan gestacije injicirano olovo intravenski u dozi od 25 mg/kg težine. Opisan je jedino pojedinačni nalaz hidrocefalusa.

Miller i suradnici (96) dokazali su da oralno dano olovo u dozama 50, 75 i 100 mg/kg/dan (sondom) ženkama štakora 3 tjedna prije parenja i do 20. dana graviditeta nije izazvalo skeletne malformacije. Takav je nalaz bio prisutan unatoč činjenici da velika količina olova prolazi kroz posteljicu (dokaz su bile visoke koncentracije olova nađene u fetalnom bubregu).

Što se tiče mogućeg mutagenog učinka olova smatra se da olovo *per se* najvjerojatnije nema takvo djelovanje na sisavce, a opažen povećani fetalni mortalitet nakon izlaganja majke olovu vjerojatno je u vezi s nekim ekstrakromosomskim činiocima kao što je pomanjkanje odgovarajućeg hormona ili nenormalna posteljica (97).

REPRODUKCIJSKI UČINCI OLOVA U ISTODOBNO I/ILI ISTOVJETNO IZLOŽENIH ŽENKI I MUŽJAKA

Većina radova koji obrađuju reprodukciju toksičnost olova na pokusnim životinjama odnosi se na ispitivanja reprodukcije sposobnosti i postnatalnog razvoja u uvjetima izloženosti jednog od roditelja, tj. ili samo majke, ili samo oca. Postoji svega nekoliko studija kojima se pokušao procijeniti učinak olova na reprodukciju kad su olovu bila izložena oba roditelja pod jednakim uvjetima odnosno istodobno.

Najranija takva studija iz 1938. godine Morrisa i suradnika (98) izvještava kako nije bilo značajnog smanjenja u postotku mladunčadi štakora u dobi odbijanja od sisanja (21 dan nakon okoćenja) u skupini čiji su roditelji bili izloženi koncentraciji olova od 512 ppm u hrani.

Navedeni se rezultati ne slažu s nalazima Schrödera i Mitchenera (99). Autori su istodobno izložili 5 parova miševa, odnosno štakora pojedinim elementima u tragovima u vodi za piće, među kojima i olovu u koncentraciji od 25 ppm. Kroz to vrijeme su se životinje parile. Upotrijebljena je doza olova za koju se iz prijašnjih pokusa znalo da ne utječe štetno na stopu rasta štakora (100). U provedenoj trigeneracijskoj reprodukcije studiji se pokazalo da je izloženost navedenoj koncentraciji olova uzrokovala znatno sniženje broja potomaka, odnosno skratila životni vijek štakora. To je još više bilo izraženo u miševa, kod kojih je stoga pokus morao biti prekinut u F_2 -generaciji. U obje vrste je također bilo opaženo kašnjenje u dobi kada su se prvi

put parili, odnosno okotili. Iz rezultata pokusa dalo se zaključiti da su elementi u tragovima, među njima i olovo, davani pojedinačno miševima i štakorima obaju spolova u dozama koje ne utječu na njihov rast, bili nepodnošljivi za normalno odvijanje reprodukcijских funkcija.

Stowe i Goyer (46) su u pokusu na štakorima obaju spolova pokušali procijeniti koliki je štetni učinak olova na potomstvo kad je izložena samo majka, samo otac i/ili oba roditelja istodobno. Izloženost 1%-tnom (10.000 ppm) olovu (acetat) u hrani započeta je na ženkaма štakora prije parenja s netretiranim mužjacima i nastavljena tijekom skotnosti i dojenja mladunčadi. Nakon odbijanja od sisanja štakori obaju spolova (F_1 -generacija) bili su izloženi jednakoj dozi olova kao i njihove majke. U dobi potpune spolne zrelosti ovi su se štakori međusobno parili u četiri moguće kombinacije: kontrolne ženke s kontrolnim mužjacima, kontrolne ženke s izloženim mužjacima, izložene ženke s kontrolnim mužjacima te izložene ženke i mužjaci međusobno. Štetni reprodukcijски učinci olova opaženi su na potomcima (F_2 -generacija) u sve tri izložene skupine. Srednja tjelesna težina mladunčadi pri okocenju, prosječan broj mladunčadi po leglu i stopa preživljavanja bile su značajno snižene u odnosu na kontrolu. To je bilo 1,5 puta jače izraženo kada su olovu bile izložene samo majke nego kada su bili izloženi samo ocevi. Kombinirani učinci olova za promatrane parametre, kada su olovu bila izložena oba roditelja, bili su najjači i opažena je tendencija zbrajanja pojedinačnih maternih s paternim učincima.

Leonard i suradnici (101) su tijekom 9 mjeseci izlagali po 20 parova miševa koncentracijama olova (acetat) od 0,1 mg/l do 1 g/l (0,1 do 1000 ppm) u vodi za pice. Autori nisu opazili nikakav štetni učinak niti jedne doze olova na plodnost miševa, promatrajući broj i veličinu legla pri okocenju i u dobi odbijanja od sisanja. Izračunali su da je najviša količina olova koja je bila unesena u organizam štakora iznosila oko 51 g/kg težine što odgovara kod čovjeka teškog 70 kg ingestiji od 2,2 kg olova u 9 mjeseci.

Slične su negativne rezultate objavili Azar i suradnici (102). Višemjesečna izloženost štakora obaju spolova olovu (acetat) u koncentracijama 10, 50, 100 i 500 ppm u hrani nije imala štetne kliničke, nutritivne i reprodukcijске učinke. U nastavku pokusa štakori su tijekom 2 godine bili izloženi olovu 1000 i 2000 ppm u hrani. Tada je opažen smanjen prirast tjelesnih težina i kod ženki, i kod mužjaka, na obje doze, te povišen mortalitet mužjaka na višoj dozi olova. Rezultati trigeneracijske reprodukcijске studije su pokazali da ni jedna koncentracija olova nije djelovala štetno na broj skotnih ženki, broj žive okoćene mladunčadi te indekse plodnosti, gestacije i laktacije. Jedino su u dobi odbijanja od sisanja (21 dan nakon okoćenja) opažene blago snižene prosječne tjelesne težine potomaka.

Hilderbrand i suradnici (80) proveli su bazična istraživanja o učinku suprotoksičnih razina olova na reprodukciju i metabolizam štakora obaju spolova. Toj su studiji prethodila upozorenja liječnika iz područja blizu talionica olova u Missouriu o pojavi nepravilnih menstrualnih ciklusa i/ili amenoreja u suprugama profesionalno izloženih radnika (28). Osim toga, tijekom šezdesetih godina, nakon široko prihvaćene upotrebe oralnih kontraceptiva, javila su se i istraživanja mogućnosti zaštite preko muškarca. Opažen je spermicidni učinak nekih teških metala (npr. kadmija, žive i srebra), a u 94% analizi-

ranih uzoraka ljudskih testisa nađeno je olovo u srednjoj koncentraciji od 12 ppm (64, 103). *Hilderbrand i suradnici* (80) su kod ženki štakora kojima je oralno davano 5 i 100 μg olova (acetat) tijekom 30 dana opazili nepravilan ciklus estrusa. Pri koncentraciji olova u krvi od 50 $\mu\text{g}/100$ ml razvio se trajni vaginalni estrus, te folikularne ciste i smanjen broj žutih tijela u jajnicima. Kod istodobno oralno izloženih mužjaka na višoj dozi olova opažen je značajan porast težine prostate ($P < 0,01$), a histološki nalaz je otkrio hiperplastične promjene. Težine testisa i sjemenih mjehurića nisu pokazivale značajnih razlika prema kontroli. Na razini plumbemije od 50 $\mu\text{g}/100$ ml histološki nalaz testisa je pokazao oštećenje sjemenih kanalića i zastoj u procesu spermatogeneze. Također je opažena impotencija, tj. mužjaci su odbijali kopulaciju sa ženkama u estrusu. U uzorcima sjemena spermiji su pokazivali sniženu pokretljivost. Kod štakora obaju spolova olovo je inhibiralo aktivnost enzima jetrenih mikrosoma i mehanizme za detoksikaciju lijekova (dokaz je bio nalaz smanjenog izlučivanja askorbinske kiseline u mokraći). Nije opaženo trovanje, niti uginuća štakora kao posljedica izloženosti olovu. U usporedbi s mužjacima koji su bili istodobno izloženi jednakim dozama olova, koncentracija olova u krvi ženki je bila viša u obje izložene skupine. Prema mišljenju autora, kod ženki je opažen općenito jači učinak izloženosti olovu nego u mužjaka štakora.

Petrusz i suradnici (47) opazili su spolne razlike prilikom istraživanja učinka trovanja olovom na gonadotropnu funkciju hipofize u sisajućih štakora. Olovo (acetat) je davano u dnevnim dozama od 25, 100 i 200 mg/kg težine oralno putem želučane sonde od 2. do 10, 15, ili 20. dana nakon okoćenja. Kod 15-dnevne ženske mladunčadi izložene dvjema višim dozama olova opažena je potpuna eliminacija visokog porasta razine folikulostimulirajućeg hormona (FSH) u serumu, što se normalno pojavi u toj dobi. Najviša doza olova je u 20-dnevnih ženki značajno snizila i hipofizni sadržaj FSH. Nije bilo razlika u tjelesnim težinama i težinama hipofize, kao ni u sadržaju luteinizirajućeg hormona (LH) i olova u hipofizama između izloženih i kontrolnih štakora obaju spolova. Ovi rezultati su upućivali na zaključak da su u sisajuće mladunčadi štakora ženskog spola učinci supkliničkog trovanja olovom posredovani centralnim neuroendokrinim mehanizmom. To se posebice odnosi na pohranjivanje i oslobađanje FSH iz hipofize. Istodobno nađene normalne razine serumskih FSH u mladunčadi muškog spola iste dobi upućivale su na to da su, s obzirom na ovaj učinak, ženke štakora u pretpubertetnom razdoblju osjetljivije od mužjaka na štetno djelovanje olova. Osim toga, ovi rezultati su upućivali i na mogućnost da su poremećaji endokrino-reprodukcijskog sustava, barem u ženki, jedna od manifestacija trovanja niskim dozama olova u najranijoj životnoj dobi čiji se poremećaji ispoljuju kasnije u životu. Do sada su tako pri perinatalnim supkliničkim trovanjima olovom u djece odnosno mladunčadi laboratorijskih životinja, kako je to opisano u novijim kliničkim i eksperimentalnim studijama, poslije ustanovljeni neki kardiovaskularni, metabolički i mentalni poremećaji i smetnje ponašanja.

Velike razlike u gametogenezi između organizama ženskog i muškog spola dovode do razlike u reakcijama na reprodukcijske otrove, npr. teške metale, među kojima je olovo (104). Testisi sadrže normalno spermatogonije i sposobnost za repopulaciju testisa spermijima počevši od puberteta tijekom

cijelog života. Potpuno razaranje spermija, ako su sačuvane spermatogonije, rezultirat će samo privremenom neplodnošću (do trajnog steriliteta ili snižene plodnosti može dovesti npr. zakasnjelo spuštanje testisa u skrotum).

Kod sisavaca ženskog spola bilo koja promjena nastala prenatalno u fetalnoj oociti može rezultirati ireverzibilnim sterilitetom, izostankom puberteta ili sniženom reprodukcijom sposobnošću a koja će doći do izražaja u doba potpune spolne zrelosti. To se događa zato što se razvoj oogonija i završava u prenatalnom razdoblju pa nakon rođenja više ne dolazi do stvaranja novih zametnih stanica u jajniku. Za razliku od spermatogonija, stvorene oocite se više ne mogu mitotički dijeliti. Potpuno razaranje oocita nakon puberteta dovest će do propadanja jajnika i premturane menopauze s posljedičnom trajnom neplodnošću (105). Osim smanjene plodnosti, koja je najočitija posljedica prenatalne izloženosti reprodukcijom otrovu, može doći do kroničnog genetskog oštećenja zametnih stanica u razvoju i/ili transplacentarno posredovanih kancerogenih promjena u fetalnim organima (104).

Zreli reprodukcijom trakt, gonade i neuroendokrini regulacijski sustav također su, preko različitih mehanizama, osjetljivi na kemijske inzulte koji ne moraju sniziti plodnost trajno već privremeno. Razlike u osjetljivosti ženskog i muškog organizma mogu se pripisati različitim reprodukcijom organskim sustavima. Važne krajnje točke kod muške reprodukcije su stadiji stvaranja i sazrijevanja spermija, a kod ženske reprodukcije je to menstrualni ciklus s ovulacijom, prijenos jajašca kroz jajovod, oplodnja i implantacija blastociste. I ovdje vrijedi opće pravilo da su nenormalne funkcije izazvane *in utero* često kronične, dok su one koje su posljedica štetnog djelovanja u odrasloj dobi češće kratkotrajne i prolazne (104).

U pokusima Piasek (106, 107), Piasek i suradnice (108) i Piasek i Kostial (109—114) utvrđivan je uspjeh reprodukcije u štakora obaju spolova koji su bili izloženi istodobno ili pod jednakim eksperimentalnim uvjetima različitim koncentracijama olova (1500 do 7500 ppm, kao acetat) u vodi za piće. Najniža ispitivana razina izloženosti od 1500 ppm olova nije imala nikakav učinak na reprodukcijom sposobnost ni ženki ni mužjaka. Dok u mužjaka ni izloženost višim koncentracijama olova nije imala štetan reprodukcijom učinak (106—111), u ženki su na razini izloženosti od 3500 ppm olova opaženi granični učinci na reprodukciju (106, 109). Uvjerljivo štetno djelovanje na veličinu legla, tjelesne težine i stopu preživljavanja sisančadi pokazalo se nakon duže izloženosti ženki (do 20 tjedana) razini od 5500 ppm olova (110, 112). Ovi su se reprodukcijom učinci ispoljili već i nakon kraće izloženosti ženki (ukupno do 9 tjedana) razini od 7500 ppm olova u piću. U skupini mladunčadi ženki kojima je potom bilo prekinuto izlaganje olovu do kraja pokusa (do 20. tjedna) opažen je djelomičan ili potpun »oporavak« od prije zabilježenih štetnih reprodukcijom učinaka. Zaključeno je da su nespecifični embriotoksični odnosno fetotoksični učinci olova reverzibilni nakon prestanka izloženosti (107, 113, 114). Bez obzira na spol štakora, razinu i dužinu izloženosti olovu, rezultati svih provedenih pokusa su pokazali da nije bilo učinka na incidenciju graviditeta (postotak skotnosti), prema tome niti na plodnost životinja.

Blanuša i suradnice (115) pokazale su da se razine olova u krvi (PbB) u ženki štakora izloženih razinama od 5500 i 7500 ppm olova u piću do ukupno 20 tjedana nisu značajno razlikovale od vrijednosti PbB izmjerenih istodobno

u njihove 11-dnevne mladunčadi. To je u skladu s prije navedenim rezultatima mjerenja PbB u drugih autora (npr. 30, 34, 35, 37).

Primjena eksperimentalnih uvjeta u kojima se životinje obaju spolova izlažu olovu istodobno ili na jednak način, kako je to do sada učinjeno u svega nekoliko reprodukcijских studija, omogućuje procjenjivanje relativnog značenja maternalnih u odnosu na paternalno posredovane štetne reprodukcijске učinke olova. Prema protokolima za reprodukcijско-toksikološka testiranja pojedinih agencija kojima se procjenjuju mogući rizici od reprodukcijског učinka ispitivane supstancije, uobicaјeno je provoditi multigeneraciјске studije na laboratoriјskim životinjama. Najčešće su to dvogeneraciјске ili trogeneraciјске reprodukcijске studije na glodavcima (116, 117, 118). Ispitivanje uspjeha reprodukcije u ženki i/ili mužjaka pokusnih životinja nakon kraće i nakon duže izloženosti olovu predstavlja, dakle, jednogeneraciјsku reprodukcijsku studiju. Ovim je jednostavnim eksperimentalnim modelom, osim relativnog značenja spola, moguće utvrditi i značenje razine i dužine izloženosti kao i reverzibilnost reprodukcijског učinka olova od prvog (kraća izloženost) do drugog potomstva (duža izloženost) u istih roditelja. Ovakav eksperimentalni pristup omogućuje rasvjetljavanje nekih do sada još uvijek nedovoljno poznatih aspekata reprodukcijске toksičnosti olova. Osim toga, ovakva shema pokusa može poslužiti i pri ispitivanju toksičnosti drugih mogućih reprodukcijских otrova.

ZAKLJUCNI KOMENTAR

Reprodukcijски učinci olova su u sadašnjim uvjetima izloženosti u ljudi uglavnom supklinički, tj. mogu se pojaviti na razinama koje nisu dovoljne da izazovu klinički jasnu sliku plumbizma. Općenito je prihvaćeno, kako je već istaknuto, da je fetus odnosno organizam u razvoju posebice osjetljiv na toksične učinke olova (38). U mnogim zemljama su spoznaje o štetnim učincima olova na humani fetus i mladi organizam bile poticaj za donošenje propisa i preporuka kojima se ograničava zapošljavanje žena u industriјskim postroјenjima u kojima mogu biti izložene olovu (9).

Od početka sedamdesetih godina znanstvenici uvelike pridonose uvažavanju učinaka niskih razina profesionalne izloženosti olovu s obzirom na učinke u djece izloženih roditelja. Godine 1972. američka Agencija za zaštitu okoliša (U. S. EPA) je među preporukama kako da se smanji izloženost olovu iz zraka u općem okolišu istakla da razine plumbemija od 30 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ za trudne žene i njihova nerođena čeda zahtijevaju posebnu brigu (38). Britanska komisija za zdravlje i sigurnost je 1978. godine predložila ovo: »U namjeri da se zaštiti fetus u razvoju od olova, prvo, trudne žene bi trebalo isključiti iz poslova gdje se radi s olovom; drugo, žene u generativnoj dobi, čija plumbemija prelazi 1,9 $\mu\text{mol}/\text{l}$ (39,3 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) ne bi trebalo zaposliti da rade s olovom« (30).

U našoj zemlji se zahtijeva da radnik izložen prašini i dimu olova i njegovih organskih spojeva bude stariji od 18 godina. Takvi su poslovi kontraindicirani za žene u vrijeme trudnoće i dojenja (119).

Neke organizacije policia osiguranja u SAD uvele su praksu ograničavanja zapošljavanja žena u generativnoj dobi na poslovima gdje dolaze u dodir

s otrovnim supstancijama, među kojima je i olovo (120). Nameće se pitanje nije li takvo ograničavanje prava diskriminatorno za žene u fertilnoj dobi, a s druge strane i za sve ostale žene, kao i za muškarce u fertilnoj dobi, koji se zapošljavaju bez ograničenja i pod jednakim su uvjetima izloženi toksičnim tvarima. Budući da se olovo naširoko upotrebljava u različitim granama industrije, potpuno isključenje žena iz područja rada gdje mogu doći s njim u dodir dovelo bi do značajnih socijalnih i ekonomskih posljedica (37). Dosađajući rezultati opsežnih istraživanja u području reprodukcije toksikologije upućuju na to da su i žene i muškarci skupine s povišenim rizikom od oštećivanja tvarima koje se nalaze u njihovoj radnoj i životnoj okolini. Osim na vlastito zdravlje, ove stvari mogu djelovati štetno i na sposobnost da se stvori i omogući razvoj i rast budućem potomstvu. Konačne mjere i propisi trebali bi zato biti usmjereni na stvaranje sigurnih i zdravih uvjeta za život i rad žena i muškaraca a time i njihove djece.

Otvoreni pitanja u području reprodukcije toksikologije olova, međutim, ima mnogo. Već više od sto godina se pouzdano zna da visoke razine olova djeluju štetno na žensku reprodukciju sposobnost (15). Otprilike jednako dugo je poznato da je olovo toksično za zametne stanice mužjaka sisavaca (60). No iz raspoloživih podataka u literaturi još uvijek nije moguće utvrditi odnos između razine olova i dužine uzloženosti s jedne strane i oštećivanja reprodukcije funkcija i moguće reverzibilnosti reprodukcije učinka olova s druge strane. Zbog premalenog broja postojećih podataka iz ispitivanja u ljudi, potrebno je provoditi daljnje pokuse na životinjama da bi se rasvijetlili ovi važni aspekti toksičnosti olova.

Literatura

1. *Damstra, T.*: Toxicological properties of lead. *Environ. Health Perspect.*, 19 (1977) 296.
2. *Krigman, M. R., Bouldin, T. W., Mushak, P.*: Lead. U: Clinical and experimental neurotoxicology. Ur. P. S. Spencer, H. H. Schaumberg, Williams i Wilkins, Baltimore 1980, str. 490.
3. *Needleman, H. L., Landrigan, P. J.*: The health effects of low level exposure to lead. *Ann. Rev. Public Health*, 2 (1981) 277.
4. *Gilfillan, S. C.*: Lead poisoning and the fall of Rome. *J. Occup. Med.*, 7 (1965) 53.
5. *Beritić, T.*: Olovo. U: Medicina rada. Ur. D. Stanković i sur., Udruženje za medicinu rada SFRJ i »Dom štampe« Zenica, Sarajevo 1978, str. 172.
6. *Fischbein, A.*: Environmental and occupational lead exposure. U: Environmental and occupational medicine. Ur. W. N. Rom, Little, Brown and Company, Boston 1983, str. 433.
7. *U. S. Environmental Protection Agency*: Air quality criteria for lead. EPA report no. 600/8-83-028 dF, 1986.
8. *Patterson, C. C.*: Contaminated and natural environments of man. *Arch. Environ. Health*, 11 (1965) 344.
9. *UNEP report no. 2*: List of environmentally dangerous chemical substances and processes of global significance. Scientific monographs, 1984, str. 8.
10. *Kehoe, R. A.*: The metabolism of lead in man in health and disease. III. Present hygienic problems relating to the absorption of lead. (The Harben lectures, 1960). *J. R. Inst. Public Health Hyg.*, 24 (1961).
11. *Waldron, H. A.*: The blood lead threshold. *Arch. Environ. Health*, 29 (1974) 271.

12. Beritić, T.: Lead concentration found in human blood in association with lead colic. Arch. Environ. Health, 23 (1971) 289.
13. Vermande-Van Eck, G. J., Meigs, J. W.: Changes in the ovary of the Rhesus monkey after chronic lead intoxication. Fertil. Steril., 11 (1960) 223.
14. Angle, C. R., McIntire, M. S.: Lead poisoning during pregnancy; fetal tolerance of calcium disodium edetate. Am. J. Dis. Child., 108 (1964) 436.
15. Rom, W. N.: Effects of lead on the female and reproduction; a review. Mt. Sinai J. Med., 43 (1976) 542.
16. Oliver, T.: Lead poisoning and the race. Br. Med. J., 1 (1911) 1096.
17. Sever, L. E.: Reproductive hazards of the workplace. J. Occup. Med., 23 (1981) 685.
18. Singh, N., Donovan, C. M., Hanshaw, J. B.: Neonatal lead intoxication in a prenatally exposed infant. J. Pediatr. (St. Louis), 93 (1978) 1019.
19. Timpo, A. E., Amin, J. S., Casalino, M. B., Yuceoglu, A. M.: Congenital lead intoxication. J. Pediatr. (St. Louis) 94 (1979) 765.
20. Qazi, Q. H., Madahar, C., Yuceoglu, A. M.: Temporary increases in chromosome breakage in an infant prenatally exposed to lead. Hum. Genet., 53 (1980) 201.
21. Rabe, A., French, J. H., Sinha, B., Fersko, R.: Functional consequences of prenatal exposure to lead in immature rats. Neurotoxicology, 6 (1985) 43.
22. Nordström, S., Beckman, L., Nordenson, I.: Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. III. Frequencies of spontaneous abortion. Hereditas, 88 (1978a) 51.
23. Nordström, S., Beckman, L., Nordenson, I.: Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. V. Spontaneous abortion among female employees and decreased birth weight in their offspring. Hereditas, 90 (1979) 291.
24. Nordström, S., Beckman, L., Nordenson, I.: Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden. I. Variations in birth weight. Hereditas, 88 (1978b) 43.
25. Sarić, M.: Reproduction and exposure to lead. Ann. Acad. Med., 13 (1984) 383.
26. Hackett, P. L., Kelman, B. J.: Availability of toxic trace metals to the conceptus. Sci. Total Environ., 28 (1983) 433.
27. Gershanik, J. J., Brooks, G. G., Little, J. A.: Blood lead values in pregnant women and their offspring. Am. J. Obstet. Gynecol., 15 (1974) 508.
28. Fahim, M. S., Fahim, Z., Hall, D. G.: Effects of subtoxic lead levels on pregnant women in the state of Missouri. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 13 (1976) 309.
29. Lauwerys, R., Buchet, J.-P., Roels, H., Hubermont, G.: Placental transfer of lead, mercury, cadmium, and carbon monoxide in women. I. Comparison of the frequency distributions of the biological indices in maternal and umbilical cord blood. Environ. Res., 15 (1978) 278.
30. Khera, A. K., Wibberley, D. G., Dathan, J. G.: Placental and stillbirth tissue lead concentrations in occupationally exposed women. Br. J. Ind. Med., 37 (1980) 394.
31. Rabinowitz, M. B., Needleman, H. L.: Temporal trends in the lead concentrations of umbilical cord blood. Science, 216 (1982) 1429.
32. Ferm, V. H., Carpenter, S. J.: Developmental malformations resulting from the administration of lead salts. Exp. Mol. Pathol., 7 (1967) 208.
33. Kostial, K., Momčilović, B.: Transport of lead-203 and calcium-47 from mother to offspring. Arch. Environ. Health, 29 (1974) 28.
34. Alexander, F. W., Delves, H. T.: Blood lead levels during pregnancy. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 48 (1981) 35.
35. Prpić-Majić, D., Kežić, S., Telišman, S., Karačić, V.: Biological indices of lead absorption in pregnant women living in a lead contaminated area. U: Environmental Contamination. International Conference London 1984. CEP Consultants Ltd., Edinburgh 1984, str. 444.
36. Newbould, A.: Low-level lead exposure and its effects on human beings. Midwives Chron., 95 (1982) 257.
37. Angell, N. F., Lavery, J. P.: The relationship of blood lead levels to obstetric outcome. Am. J. Obstet. Gynecol., 142 (1982) 40.

38. *Bridbord, K.*: Low-level exposure to lead in the workplace. U: Low level lead exposure; the clinical implications of current research. Ur.: H. L. Needleman, Raven Press, New York 1980, str. 267.
39. *Silbergeld, E. K.*: Effects of lead on reproduction; review of experimental studies. U: Lead versus health. Ur. M. Rutter, R. Russel-Jones, John Wiley and sons, London 1983, str. 217.
40. *Der, R., Fahim, Z., Hilderbrand, D., Fahim, M.*: Combined effect of lead and low protein diet on growth, sexual development, and metabolism in female rats. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol., 9 (1974) 723.
41. *Mahaffey-Six, K. R., Goyer, R. A.*: The influence of iron deficiency on tissue and toxicity of ingested lead in the rat. J. Lab. Clin. Med., 79 (1972) 128.
42. *Mahaffey-Six, K. R., Goyer, R. A.*: Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium. J. Lab. Clin. Med., 76 (1970) 933.
43. *Maker, H. S., Lehrer, G. M., Silides, D. J.*: The effect of lead on mouse brain development. Environ. Res., 10 (1975) 76.
44. *Grant, L. D., Kimmel, C. A., West, G. L., Martinez-Vargas, C. M., Howard, J. L.*: Chronic low-level lead toxicity in the rat. II. Effects on postnatal physical and behavioral development. Toxicol. Appl. Pharmacol., 56 (1980) 42.
45. *Kimmel, C. A., Grant, L. D., Sloan, C. S., Gladen, B. C.*: Chronic low-level lead toxicity in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol., 56 (1980) 28.
46. *Stowe, H. D., Goyer, R. A.*: The reproductive ability and progeny of F₁ lead-toxic rats. Fertil. Steril., 22 (1971) 755.
47. *Petrusz, P., Weaver, C. M., Grant, L. D., Mushak, P., Krigman, M. R.*: Lead poisoning and reproduction; effects on pituitary and serum gonadotropins in neonatal rats. Environ. Res., 19 (1979) 383.
48. *Mattison, D. R.*: Ovarian toxicity; effects on sexual maturation, reproduction and menopause. U: Reproductive and developmental toxicity of metals. Ur. T. W. Clarkson, G. F. Nordberg, P. R. Sager, Plenum Press, New York 1983, str. 317.
49. *Jacquet, P., Léonard, A., Gerber, G. B.*: Action of lead on early divisions of the mouse embryo. Toxicology, 6 (1976) 129.
50. *Jacquet, P.*: Early embryonic development in lead-intoxicated mice. Arch. Pathol. Lab. Med., 101 (1977) 641.
51. *Wide, M., Nilsson, O.*: Differential susceptibility of the embryo to inorganic lead during periimplantation in the mouse. Teratology, 16 (1977) 273.
52. *Wide, M.*: Effect of inorganic lead on the mouse blastocyst *in vitro*. Teratology, 17 (1978) 165.
53. *Wide, M., Nilson, B. O.*: Interference of lead with implantation in the mouse; a study of the surface ultrastructure of blastocysts and endometrium. Teratology, 20 (1979) 101.
54. *Wide, M.*: Interference of lead with implantation in the mouse; effect of exogenous oestradiol and progesterone. Teratology, 21 (1980) 187.
55. *Wide, M., Wide, L.*: Estradiol receptor activity *in uteri* of pregnant mice given lead before implantation. Fertil. Steril., 34 (1980) 503.
56. *Jacquet, P., Gerber, G. B., Maes, J.*: Biochemical studies in embryos after exposure of pregnant mice to dietary lead. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 18 (1977) 271.
57. *Gerber, G. B., Maes, J.*: Heme synthesis in the lead-intoxicated mouse embryo. Toxicology, 9 (1978) 173.
58. *Gerber, G. B., Maes, J., Deroo, J.*: Effect of dietary lead on placental blood flow and on fetal uptake of α -amino isobutyrate. Arch. Toxicol., 41 (1978) 125.
59. *Gerber, G. B., Léonard, A., Jacquet, P.*: Toxicity, mutagenicity and teratogenicity of lead. Mutation Res., 76 (1980) 115.
60. *Thomas, J. A., Brogan, W. C.*: Some actions of lead on the sperm and on the male reproductive system. Am. J. Ind. Med., 4 (1983) 127.
61. *Berlin, M., Lee, I. P., Russell, L. D.*: Effects of metals on male reproduction. U: Reproductive and developmental toxicity of metals. Ur. T. W. Clarkson, G. F. Nordberg, P. R. Sager, Plenum Press, New York 1983, str. 27.

62. *Nogaki, K.*: On the action of lead on the body of lead refinery workers; particularly on conception, pregnancy and parturition in the case of females and on the vitality of their newborn. *Igaku Kenkyu*, 27 (1957) 1314. *Excerpta Med.* 4 (1958) 2176.
63. *Lancranjan, I., Popescu, H. I., Gavanescu, O., Klepsch, I., Serbanescu, M.*: Reproductive ability of workmen occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health*, 30 (1975) 396.
64. *Gunn, S. A., Clark-Gould, T.*: Cadmium and other mineral elements. U: *The testis*. Vol. III. Ur. A. D. Johnson, W. R. Gomes, N. L. Vandemark, Academic Press, New York 1970, str. 378.
65. *Plechaty, M. M., Noll, B., Sunderman, F. W., Jr.*: Lead concentrations in semen of healthy men without occupational exposure to lead. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 7 (1977) 515.
66. *Molinini, R., Assennato, G., Altamura, M., Gagliano-Candela, R., Gagliardi, T., Paci, C.*: Lead effects on male fertility in battery workers. Abstracts of XX International Congress on Occupational Health. Cairo 1981, str. 132.
67. *Braunstein, G. D., Dahlgren, J., Loriaux, D. L.*: Hypogonadism in chronically lead-poisoned men. *Infertility*, 1 (1978) 33.
68. *Cullen, M. R., Kayne, R. D., Robins, J. M.*: Endocrine and reproductive dysfunction in men associated with occupational inorganic lead intoxication. *Arch. Environ. Health*, 39 (1984) 431.
69. *Wildt, K., Eliasson, R., Berlin, M.*: Effects of occupational exposure to lead on sperm and semen. U: *Reproductive and developmental toxicity of metals*. Ur. T. W. Clarkson, G. F. Nordberg, P. R. Sager, Plenum Press, New York 1983, str. 279.
70. *Cole, L. J., Bachhuber, L. J.*: The effect of lead on the germ cells of the male rabbit and fowl as indicated by their progeny. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 12 (1914) 24.
71. *Varma, M. M., Joshi, S. R., Adeyemi, A. O.*: Mutagenicity and infertility following administration of lead sub-acetate to Swiss male mice. *Experientia*, 30 (1974) 486.
72. *Eyden, B. P., Maisin, J. R., Mattelin, G.*: Long-term effects of dietary lead acetate on survival, body-weight and seminal cytology in mice. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 19 (1978) 266.
73. *Krasovskij, G. N., Vasuković, L. Y., Čariev, O. G.*: Experimental study of biological effects of lead and aluminium following oral administration. *Environ. Health Perspect.*, 30 (1979) 47.
74. *Ghelberg, N. W., Bordas, E.*: Lead-induced experimental lesions on the testis and their treatment. *J. Appl. Toxicol.*, 5 (1981) 284.
75. *Ivanova-Čemišanska, L., Antonov, G., Hinkova, L., Valčeva, Vl., Hristeva, V.*: Effect of lead acetate on reproduction in male white rats. *Hig. Zdraveopaz.*, 23 (1980) 304.
76. *Ivanova-Čemišanska, L., Antonov, G., Hinkova, L., Hristeva, V.*: Experimental assessment of the risk for offspring in lead exposure. *Probl. Hig.*, 9 (1984) 79.
77. *Fowler, B. A., Kimmel, C. A., Woods, J. S., McConnell, E. E., Grant, L. D.*: Chronic low-level lead toxicity in the rat. III. An integrated assessment of long-term toxicity with special reference to the kidney. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56 (1980) 59.
78. *Kendall, R. J., Scanlon, P. F.*: Effects of chronic lead ingestion on reproductive characteristics of ringed turtle doves *Streptopelia risoria* and tissue lead concentrations of adults and their progeny. *Environ. Pollut. (Ser. A)*, 26 (1981) 203.
79. *Golubović, E. Ya., Avhimenko, M. M., Čirkova, E. M.*: Biochemical and morphological changes in the testicles of rats induced by small doses of lead. *Toksikol. Nov. Prom. Him. Vesčestv.*, 10 (1968) 63.
80. *Hilderbrand, D. C., Der, R., Griffin, W. T., Fahim, M. S.*: Effect of lead acetate on reproduction. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 115 (1973) 1058.
81. *Kumar, S., Pant, S. C.*: Comparative effects of the sublethal poisoning of zinc, copper and lead on the gonads of the teleost *Puntius conchonus ham.* *Toxicol. Lett.*, 23 (1984) 189.

82. Chowdhury, A. R., Dewan, A., Gandhi, D. N.: Toxic effect of lead on the testes of rat. *Biomed. Biochim. Acta*, 43 (1984) 95.
83. Zirkin, B. R., Gross, R., Ewing, L. L.: Effects of lead acetate on male rat reproduction. *Concepts Toxicol.* (Karger, Basel), 3 (1985) 138.
84. Léonard, A., Gerber, G. B., Jacquet, P.: Effect of lead on reproductive capacity and development of mammals. U: *Reproductive and developmental toxicity of metals*. Ur. T. W. Clarkson, G. F. Nordberg, P. R. Sager, Plenum Press, New York 1983, str. 357.
85. Kennedy, G. L., Arnold, D. W., Keplinger, M. C., Calandra C. J.: Mutagenic and teratogenic studies with lead acetate and tetraethyl lead. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 19 (1971) 370.
86. Wiebe, J. P., Barr, K. J., Buckingham, K. D.: Lead administration during pregnancy and lactation affects steroidogenesis and hormone receptors in testes of offspring. *J. Toxicol. Environ. Health*, 10 (1982) 653.
87. Wiebe, J. P., Salhanick, A. I., Myers, K. I.: On the mechanism of action of lead in the testis; *in vitro* suppression of FSH receptors, cyclic AMP and steroidogenesis. *Life Sci.*, 32 (1983) 1997.
88. Raghavan, S. R. V., Culver, B. D., Gonick, H. C.: Erythrocyte lead-binding protein after occupational exposure. I. Relationship to lead toxicity. *Environ. Res.*, 22 (1980) 264.
89. Raghavan, S. R. V., Culver, B. D., Gonick, H. C.: Erythrocyte lead-binding protein after occupational exposure. II. Influence on lead inhibition on membrane Na^+ , K^+ -adenosinetriphosphatase. *J. Toxicol. Environ. Health*, 7 (1981) 561.
90. McClain, R. M., Becker, B. A.: Teratogenicity, fetal toxicity, and placental transfer of lead nitrate in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 31 (1975) 72.
91. Hackett, P. L., Hess, J. O., Sikov, M. R.: Lead distribution and effects during development in the rat. U: *Developmental toxicology of energy-related pollutants*. Proceedings of the 17th annual Handford biology symposium, Richland (Washington) 1977. Ur. D. D. Mahlum, M. R. Sikov, P. L. Hackett, F. D. Andrew, NTIS Springfield 1978, str. 505.
92. Jacquet, P., Gerber, G. B.: Teratogenic effects of lead in the mouse. *Biomedicine*, 30 (1979) 223.
93. Fern, V. H., Fern, D. W.: The specificity of the teratogenic effect of lead in the golden hamster. *Life Sci.* 10 (1971) 35.
94. Gale, T. F.: A variable embryotoxic response to lead in different strains of hamsters. *Environ. Res.*, 17 (1978) 325.
95. Minsker, D. H., Moskalski, N., Peter, C. P., Robertson, R. T., Bokelman, D. L.: Exposure of rats to lead nitrate *in utero* or *postpartum*; effects on morphology and behavior. *Biol. Neonate*, 41 (1982) 193.
96. Miller, C. D., Buck, W. B., Hembrough, F. B., Cunningham, W. L.: Fetal rat development as influenced by maternal lead exposure. *Vet. Hum. Toxicol.*, 24 (1982) 163.
97. Jacquet, P., Léonard, A.: Cytogenic investigations on mice treated with lead. *J. Toxicol. Environ. Health*, 2 (1977) 619.
98. Morris, H. P., Laug, E. P., Morris, H. J., Grant, R. L.: The growth and reproduction of rats fed diets containing lead acetate and arsenic trioxide and the lead and arsenic content of newborn and suckling rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 64 (1938) 420.
99. Schröder, H. A., Mitchener, M.: Toxic effects of trace elements on the reproduction of mice and rats. *Arch. Environ. Health*, 23 (1971) 102.
100. Schröder, H. A., Mitchener, M., Nason, A. P.: Zirconium, niobium, antimony, vanadium and lead in rats; life term studies. *J. Nutr.*, 100 (1970) 59.
101. Léonard, A., Linden, G., Gerber, G. B.: Study in the mouse of genetic and cytogenetic effects of lead contamination. U: *Environmental health aspects of lead*. Proceedings, International Symposium, Amsterdam 1972. Ur. D. Barth, A. Berlin, R. Engel, P. Recht, J. Smeets, Commission of the European Communities, Luxembourg 1973, str. 303.

102. Azar, A., Trochimowicz, H. J., Maxfield, M. E.: Review of lead studies in animals carried out at Haskell Laboratory; two year feedings study and response to hemorrhage study. U: Environmental health aspects of lead. Proceedings, International Symposium, Amsterdam 1972. Ur. D. Barth, A. Berlin, R. Engel, P. Recht, J. Smeets, Commission of the European Communities, Luxembourg 1973, str. 199.
103. Tipton, I. H., Cook, M. J.: Trace elements in human tissue. Part II. Adult subjects from the United States. Health Phys., 9 (1963) 103.
104. McLahlan, J. A., Newbold, R. R., Korach, K. S., Lamb IV, J. C., Suzuki, Y.: Transplacental toxicology; prenatal factors influencing postnatal fertility. U: Developmental toxicology. Ur. C. A. Kimmel, J. Buelke-Sam, Raven Press, New York 1981, str. 213.
105. Mattison, D. R., Gates, A. H., Léonard, A., Wide, M., Hemminki, K., Copius-Peereboom-Stegman, J. H. J.: Female reproductive system. U: Reproductive and developmental toxicity of metals. Ur.: T. W. Clarkson, G. F. Nordberg, P. R. Sager, Plenum Press, New York 1983, str. 43.
106. Piasek, M.: Učinak olova na reprodukciju u štakora obaju spolova. U: Zbornik sažetaka priopćenja Drugog kongresa biologa Hrvatske, Zadar 1984. Ur.: H. Gomerčić, Đ. Huber, Hrvatsko biološko društvo, Zagreb 1984, str. 244.
107. Piasek, M.: Učinak olova na reprodukciju u štakora. Magistarski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb 1986.
108. Piasek, M., Maljković, T., Kostial, K.: Učinak olova na reprodukciju u štakora. U: Zbornik radova VI kongresa medicine rada Jugoslavije. Ur. A. Mihajlov, Društvo lekara Vojvodine, Novi Sad 1983, str. 134.
109. Piasek, M., Kostial, K.: The effect of lead on reproduction in rats. U: Abstracts of XXI International Congress on Occupational Health. Ur. I. E. Eustace, ETA Publications Ltd., Dublin 1984, str. 773.
110. Piasek, M., Kostial, K.: Relative significance of parental exposure to lead on reproductive performance in rats. U: Proceedings of XIII Congress of the Yugoslav Physiological Society, Skoplje 1985, Jugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta, 21, Suppl. 4 (1985) 261.
111. Piasek, M., Kostial, K.: Effect of exposure to lead on reproduction in male rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 39 (1987) 448.
112. Piasek, M., Kostial, K.: Duration of exposure to lead and reproductive performance in rats. U: Heavy metals in the environment. Proceedings of V International Conference, Vol. 1, Atena 1985. Ur. Lekkas, T. D., CEP Consultants Ltd., Edinburgh 1985, str. 463.
113. Piasek, M., Kostial, K.: Reversibility of the effect of lead on reproductive performance in female rats. International Conference on Lead, Chromium and Thallium, Toxicity, Environmental and Health Impact, Regulation, Milano 1986. Abstracts, str. 28.
114. Piasek, M., Kostial, K.: Reverzibilnost učinka olova na reprodukciju štakora. U: Plenarni referati i izvodi saopštenja VII kongresa biologa Jugoslavije, Budva 1986. Ur. B. Ivanović, Unija bioloških naučnih društava Jugoslavije i Društvo biologa SR Crne Gore, Titograd 1986, str. 328.
115. Blanuša, M., Breški, Đ., Ciganović, M., Kostial, K.: Lead body burden in mother rats and their pups in relation to lead exposure. U: Proceedings of XIII Congress of the Yugoslav Physiological Society, Skoplje 1985, Jugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta, 21, Suppl. 4 (1985) 15.
116. Dixon, R. L., Hall, J. L.: Reproductive toxicology. U: Principles and methods of toxicology. Ur. A. W. Hayes, Raven Press, New York 1982, str. 107.
117. U. S. Environmental Protection Agency: Reproduction and fertility effects. U: Health affects test guidelines. EPA report no. 560/6-82-001, 1982.
118. Lamb IV, J. C.: Reproductive toxicity testing; evaluating and developing new testing systems. J. Am. Coll. Toxicol., 4 (1985) 163.

119. *Šarić, M., Ribić, Z., Čengić, Z., Sertić, Z.*: Radna sposobnost. Ur. A. Ivić, Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada i Viša tehnička škola za sigurnost pri radu i zaštitu od požara, Zagreb 1984, str. 65.
120. *Stellman, J. M.*: The occupational environment and reproductive health. U: *Environmental and occupational medicine*. Ur. W. N. Rom, Little, Brown and Company, Boston 1983, str. 75.

Summary

EFFECTS OF LEAD ON REPRODUCTION:

REVIEW OF DATA FROM HUMAN STUDIES AND FROM ANIMAL EXPERIMENTS

Recent literature data concerning reproductive effects of lead in exposed men and women and in experimental animals of both sexes are presented. Key results from the studies which have been performed in the attempt to elucidate possible pathogenic mechanisms underlying lead effects on male and female reproductive functions are also surveyed. The teratogenic action of lead is briefly presented. The relevance of experimental conditions, when animals of both sexes are simultaneously and/or identically exposed to lead, for assessing the maternal adverse effect of lead on the foetus as compared to the paternally mediated one is pointed out. Author's own results from single-generation reproduction studies on male and female rats are presented. Finally, the necessity is stressed for determining some aspects of reproductive lead toxicity, which have not yet been sufficiently elucidated. These are, in the first place, the relative significance of sex, level and duration of exposure and a possible reversibility of lead effect in conditions of growing pollution of the natural environment and of risk from lead exposure for an increasing number of female workers.

*Institute for Medical Research
and Occupational Health, Zagreb*

*Received for publication,
December 23, 1986*