

EFEKTET TOKSIKE TË PLUMBIT NË RIPRODHIMIN E FEMRAVE TË *Cavia porcellus* TOXIC EFFECTS OF LEAD ON REPRODUCTION OF *Cavia porcellus* FEMALES

ALBANA MUNGA^{a*}, DASHAMIR XHAXHIU^b, ERIONA ABAZAJ^c

^{a*}Departamenti i Lëndëve Morfofunktionale, Fakulteti i Mjeksisë Veterinare, UB Tiranë

^bDepartamenti i Lëndëve Morfofunktionale, Fakulteti i Mjeksisë Veterinare, UB Tiranë

^cDepartamenti i Kontrollit të Sëmundjeve Infektive dhe Epidemiologjisë, ISHP Tiranë

Email: albanamunga@yahoo.com

PËRMBLEDHJE

Plumbi është një toksinë e tipit kumulativ. Ndër efektet negative të tij janë çrregullimi i sistemeve të ndryshme enzimatike qelizore duke rezultuar në dëmtimin e indeve dhe organeve kryesore përfshirë sistemin nervor, sistemin endokrin, mushkëritë, mëlçinë, veshkat, organet e riprodhimit etj. Administrimi i plumbit u bë në rrugë intraperitoneale në tre doza të ndryshme në femrat e rritura të *Cavia porcellus* (Linnaeus, 1758). Dozat e përdorura janë doza e tolerueshme ditore (0,0036 mgPb/kg/ditë), e ndërmjetme (2,61 mgPb/kg/ditë) dhe doza afër asaj letale (4,95 mgPb/kg/ditë) për 60 ditë. Ndër ndryshimet histologjike në vezore u panë një rritje e numrit të folikulave atretike, ndalimi i maturimit të folikulave, çorganizimi i qelizave granuloze, shkëputja e kontakteve ndërmjet grupeve të ndryshme qelizore, procese hemoragjike në trupin e verdhë etj. Niveli i akumulimit të plumbit shfaq efekte statistikiisht domethënëse në sekretimin e hormoneve duke ulur sekretimin e FSH dhe estradiolit dhe duke rritur sekretimin e LH, progesteronit dhe testosteronit.

Fjalë kyçe: plumbi, vezore, folikula, hormonet gonadotropike, hormonet seksuale

ABSTRACT

Lead is a cumulative toxin. Its negative effects include disorders of different cellular enzymatic systems resulting in damage of different tissues and organs including nervous system, endocrine system, lungs, liver, kidney, reproductive organs etc. Lead administration was made intraperitoneally in three different doses in adult female of *Cavia porcellus* (Linnaeus, 1758). The applied doses are tolerable daily

intake (TDI 0,0036 mgPb/kg/day), intermediate doze (2,61 mgPb/kg/day) and LD₅₀-5% (4,95 mgPb/kg/day) during 60 days. Histological changes in the ovaries include increasing number of atretic follicles, arrest of follicle maturation, disorganization of granular cells, disjunctions between different types of cells, corpus luteum with hemorrhagic processes etc. Levels of lead accumulation have statistically significant effects on hormone secretion, decreasing the secretion of FSH and estradiol and raising the secretion of LH, progesterone and testosterone.

Key words: lead, ovary, follicle, gonadotropic hormones, sexual hormones

HYRJA

Ekspozimi mjedisor ndaj niveleve toksike të plumbit ndodh në shumë industri dhe ka efekte të dëmshme potenciale në kapacitetin riprodhues të femrave. Studimet klinike në kafshë tregojnë se ekspozimi ndaj dozave toksike të plumbit shkakton anormalitete në ovogjenezë, por mekanizmat e përfshirë nuk janë identifikuar ende.

Shumica e plumbit të absorbuar në organizëm ekskretohet nëpërmjet filtrimit renal ose biliar. Pas absorbimit, plumbi shpërndahet në tre drejtime kryesore: në gjak, në indet e buta dhe indet e mineralizuara. Edhe pse gjaku përmban sasi të vogla të ngarkesës totale trupore, ai shërben si depozita fillestare e plumbit të absorbuar dhe e shpërndan atë në organizëm, duke e bërë të disponueshëm për indet e tjera ose për ekskretim (5, 6, 8).

Gjysmëjeta e plumbit në organizmat e rritur është 28-36 ditë. BLL (niveli i plumbit në gjak) në gjakun venoz është testi më i përdorshëm për toksikimet e vona ose

të tanishme ndaj plumbit. Plumbi ndikon kryesisht në sistemin nervor, renal, qelizat e gjakut, metabolizmin e vitaminës D dhe të kalciumit, por ka prova të efekteve të dëmshme edhe në sistemin riprodhues (1, 2).

Qëllimet e këtij studimi janë: të ndiqet dinamika e akumulimit të plumbit në gjak, të vlerësohet efekti i dozave të ndryshme të plumbit në riprodhimin e femrave të kavjeve, efekti i dozave të ndryshme të plumbit në histologjinë e vezoreve dhe efekti i po këtyre dozave në sekretimin e hormoneve gonadotrop dhe të steroideve seksual në qarkullimin e gjakut.

Duke marrë në konsideratë faktin që plumbi zë vendin e dytë në listën e substancave toksike të CERLA, është e një rëndësie të veçantë të provohen efektet e dëmshme të plumbit ndër të tjera edhe në aparatin riprodhues.

MATERIALI DHE METODA

Në këtë studim u përzgjedhën 40 individë femra të llojit *Cavia porcellus* (Linnaeus, 1758). Kafshët ishin të gjitha seksualisht të maturuara me peshë trupore ndërmjet 400 dhe 550 gram (mosha 3-4 muaj) të pastra nga sëmundjet infektive. Ato u ndanë në 4 grupe eksperimentimi: 0- grupi i kontrollit i trajtuar me ujë fiziologjik me injektim intraperitoneal; 1- grupi TDI i trajtuar me tretësirë ujore të acetatit të plumbit me injektim intraperitoneal (0,0036 mg plumb/kg/ditë); 2- grupi me dozën e ndërmjetme i trajtuar me tretësirë ujore të acetatit të plumbit me injektim intraperitoneal (2,16 mg plumb/kg/ditë); 3- grupi LD₅₀-5% i trajtuar me tretësirë ujore të acetatit të plumbit me injektim intraperitoneal (4,95 mg plumb/kg/ditë). Tretësira u aplikua për 60 ditë. Kafshët u mbajtën në të njëjtat kushte temperature, ndriçimi dhe lagështie, dhe u trajtuan me të njëjtin regjim ushqimor. Në fillim të eksperimentit dhe çdo një javë, deri në ditën e sakrifikimit, u mblodhën kampione gjaku për të matur nivelin e plumbit dhe të hormoneve gonadotropik dhe steroide seksual. Marrja e gjaku venoz u bë në rrugë intrakardiakë. Matjet e plumbit në gjak u bënë me Spektrometrin e Absorbimit Atomik tipi "Varian" me limit zbulimi 0,06 ppb (µg/L). Gjithashtu u bë matja e nivelit të hormoneve FSH, LH, estradiol, testosteron dhe progesteron në serum duke përdorur principin ELISA. Këto matje u bënë në mënyrë automatike në sistemin Elecsys 2010 me limite zbulimi: estradiol 5,0 pg/ml; progesteron 0,030 ng/ml; testosteron 0,069 nmol/l; LH 0,10 mIU/ml dhe FSH 0,10 mIU/ml. Pas sakrifikimit u bë ekstraktimi i vezoreve, prerjet histologjike të të cilave u përgatitën me metodën

klasike hematoksinë-eozinë dhe u ekzaminuan në mikroskopin optik.

REZULTATE DHE DISKUTIME

Preparatet histologjike të përgatitura nga gonadet e kafshëve të kontrollit dhe të kafshëve të manipuluar tregojnë qartë ndryshime thelbësore në grupet e ndryshme qelizore sidomos në epitelin gjerminativ. Ekzaminimi në mikroskopin optik i preparateve histologjike të vezoreve tregon ndryshime të mëdha degenerative.

Në figurën 1 dhe 2 paraqiten prerje të vezoreve të grupit të kontrollit. Në figurën 1 mund të dallohen të gjithë komponentët e një folikule antrale, shtresat e *theca externa* dhe *theca interna*, shtresat e qelizave granuloze janë të plota dhe gjithashtu janë të zhvilluara qelizat e *cumulus ooforus* dhe *corona radiata*. Në mes të qelizave të *corona radiata* vendoset oociti i madh në procesin e maturimit i rrethuar nga zona pellucide. Gjithashtu dallohet trupi i verdhë i zhvilluar dhe folikula në faza të ndryshme të zhvillimit duke filluar nga folikulat primordiale deri në folikulat e Graafian.

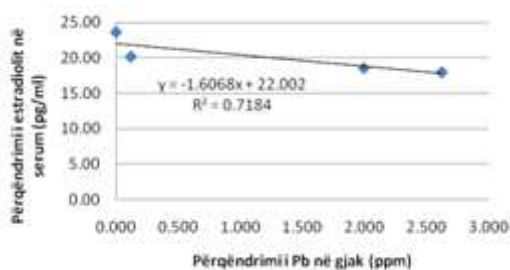
Edhe në grupin e trajtuar me dozën TDI të plumbit, strukturat ruhen plotësisht dhe nuk ka asnjë ndryshim degjerativ të asnjë prej grupeve të qelizave (figura 3). Paraqiten folikula në stadi të ndryshme zhvillimi dhe trupi i verdhë i plotë dhe mjaft i zhvilluar.

Në grupin e trajtuar me dozën e ndërmjetme të plumbit shfaqen një numër i madh folikulash pak a shumë në të njëjtin stad zhvillimi dhe shumë pak prej tyre përmbajnë qeliza vezë në maturim (figura 4,5). Qelizat granuloze kanë filluar të çorganizohen dhe të shkëputin kontaktet me qelizat e thekës, ndërkohë që këto të fundit shtojnë shtresat e tyre dhe bëhen më të ngjeshura. Ndërmjet qelizave granuloze dallohen çarje të mëdha.

Edhe në grupin e trajtuar me dozën LD₅₀-5% ndryshimet degenerative janë të dukshme (figura 6, 7). Në preparatet dallohen folikula cistike dhe atretike si dhe folikula ku qelizat granuloze janë të rralluara dhe të shkëputura si pasojë e proceseve nekrotike të nxitura nga sasi të toksike të plumbit, gjithashtu mungon trupi i verdhë. Megjithëse sistemi riprodhues nuk konsiderohet si sistem në të cilin plumbi ka ndikim primar, ai ndikon shumë në proceset degenerative në vezore. Në vezore akumulohet një sasi e konsiderueshme e plumbit që mund të qarkullojë në organizëm.

Pesë tabelat në vazhdim dhe grafikët përkatës paraqesin vlerat e përqendrimit të plumbit në gjak,

nivelin e hormoneve në serum në fund të trajtimit dhe lidhjet që ekzistojnë ndërmjet tyre. Tabela 1 paraqet vlerat e përqendrimit të plumbit dhe nivelin e estradiolit në serum në femrat e grupuara si dozës së aplikuar. Funkzioni i regresit linear që përshkruan lidhjen ndërmjet akumulimit të plumbit në gjak dhe sekretimit të estadiolit në femrat përcaktohet nga koeficientët $a = 22,002$ dhe $b = -1,6068$. Koeficienti i përcaktueshmërisë së kësaj drejtëze është $R^2 = 0,7184$. Koeficienti i korrelacionit Pearson është $r = -0,848$ për nivel besimi $\alpha = 0,05$ që tregon se lidhja mes këtyre parametrave është e relativisht e fortë negative (grafiku 1).



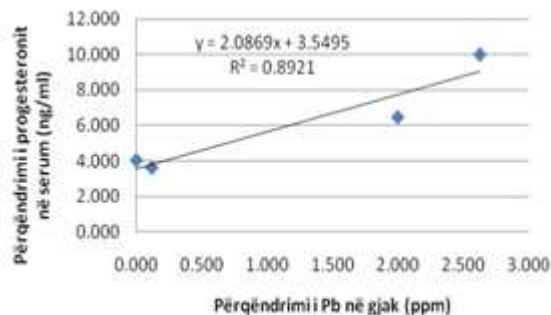
Grafiku 1. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të estradiolit në serum në femra

Përqendrimi Doza	Pb	Estradiol
Kontroll	0.000	23.61
TDI	0.118	20.18
Mes.dozë	1.998	18.59
LD ₅₀ -5%	2.626	18.01

Tabela 1. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të estradiolit në serum në femra

Tabela 2 jep vlerat e shpërndarjeve reale të përqendrimit të plumbit në gjak (sipas dozave të përdorura) dhe nivelit të progesteronit në serum në femrat e trajtuara me plumb. Grafiku 2 paraqet shpërndarjen e resë së pikave dhe drejtëzën e regresit linear që përaftron këto vlera. Koeficientët e funksionit të kësaj drejtëze janë $a = 3,5495$ dhe $b = 2,0869$, ndërsa koeficienti i përcaktueshmërisë është $R^2 = 0,8921$ (relativisht i lartë). Fortësia e lidhjes ndërmjet nivelit të plumbit në gjak dhe të progesteronit në serum përcaktohet nga koeficienti Pearson $r = 0,944$

për $\alpha = 0,05$, pra kjo lidhje është shumë e fortë pozitive.



Grafiku 2. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të progesteronit në serum në femra

Përqendrimi Doza	Pb	Progesteron
Kontroll	0.000	4.028
TDI	0.118	3.610
Mes.dozë	1.998	6.460
LD ₅₀ -5%	2.626	9.996

Tabela 2. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të progesteronit në serum në femra

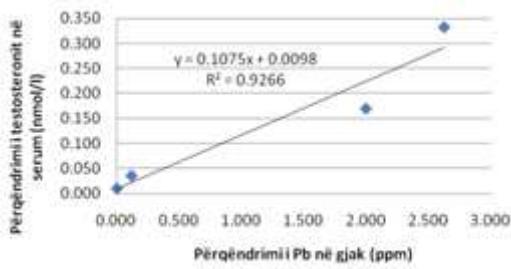
Tabela 3 dhe grafiku 3 japin vlerat dhe lidhjet e plumbit në gjak me nivelin e testosteronit në serum në femra. Funkzioni i drejtëzës së regresit linear të kësaj shpërndarje pikash është $y = 0,1075x + 0,0098$ dhe koeficienti i përcaktueshmërisë së kësaj drejtëze është $R^2 = 0,9266$. Lidhja ndërmjet këtyre dy parametrave rezulton shumë e fortë pozitive me koeficient Pearson $r = 0,963$ për nivel besimi $\alpha = 0,05$.

Përqendrimi Doza	Pb	Testosteron
Kontroll	0.000	0.010
TDI	0.118	0.036
Mes.dozë	1.998	0.170
LD ₅₀ -5%	2.626	0.333

Tabela 3. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të testosteronit në serum në femra

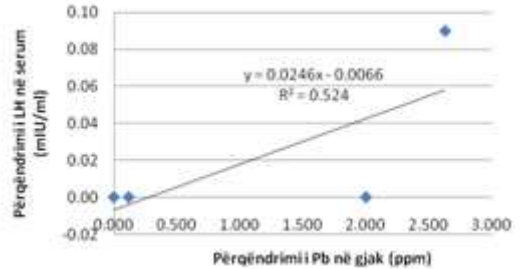
Tabela 4 jep vlerat për përqendrimin e plumbit në gjak dhe vlerat korresponduese të LH në serum për femrat e trajtuara me plumb. Ekuacioni i drejtëzës së regresit

linear në këtë rast është $y = 0.0246x - 0.0066$ me koeficient përcaktueshmërie $R^2 = 0,524$, ndërsa koeficienti i korrelacionit Pearson është $r = 0,724$ për nivel besimi $\alpha = 0,05$ (grafiku 4). Pra, ekziston një lidhje statistikisht domethënëse pozitive ndërmjet përqendrimit të plumbit në gjak dhe nivelit të sekretimit të progesteronit, por kjo nuk është aq e fortë sa në rastin e estradiolit.



Grafiku 3. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të testosteronit në serum në femra

sekretimin e tyre. Është për t'u theksuar fakti që doza të ndryshme të plumbit shfaqin efekte të ndryshme në ecurinë e sekretimit të disa hormoneve përgjatë kohës së eksperimentimit. Kështu doza TDI shfaq efekt pozitiv në sekretimin e estradiolit ndërkohë që dy dozat më të larta kanë efekt frenues në sekretimin e tij (tabela 6). E kundërt shfaqet tabloja në rastin e testosteronit, por këtu korrelacionet në të gjitha rastet rezultojnë më të forta (3, 4, 9, 10).



Grafiku 4. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të LH në serum në femra

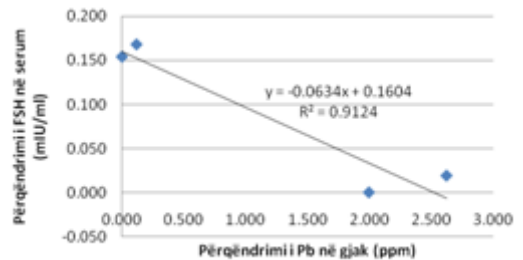
Përqendrimi Doza	Pb	LH
Kontroll	0.000	0.00
TDI	0.118	0.00
Mes.dozë	1.998	0.00
LD ₅₀ -5%	2.626	0.09

Tabela 4. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të LH në serum në femra

Përqendrimi Doza	Pb	FSH
Kontroll	0.000	0.154
TDI	0.118	0.168
Mes.dozë	1.998	0.000
LD ₅₀ -5%	2.626	0.019

Tabela 5. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të FSH në serum në femra

Përcaktimi i marrëdhënieve ndërmjet nivelit të plumbit në gjak në fund të periudhës së eksperimentimit dhe sekretimit të FSH në femra është bërë duke u bazuar në vlerat e paraqitura në tabelën 5. Grafiku 5 paraqet shpërndarjen e resë së pikave dhe drejtëzën përkatëse të regresit linear. Ekuacioni e drejtëzës së regresit linear përcaktohet nga koeficientët: $a = 0,1604$ dhe $b = -0,0634$, koeficienti i përcaktueshmërisë është shumë i lartë $R^2 = 0,9124$. Koeficienti i korrelacionit Pearson është $r = -0,955$ për nivel besimi $\alpha = 0,05$ që tregon një lidhje shumë të fortë negative ndërmjet plumbit në gjak dhe nivelit të sekretimit të testosteronit në femrat e trajtuara me plumb. Siç duket nga këto rezultate plumbi ndikon ndjeshëm në sekretimin e hormoneve steroid seksual dhe hormoneve gonadotropik duke shtuar ose frenuar



Grafiku 5. Lidhja ndërmjet akumulimit të Pb në gjak dhe nivelit të FSH në serum në femra

Hormoni	Estradiol	Progesteron	Testosteron	LH	FSH	Hormoni
Metali						Doza
Pb ♀	0.3379	0.1782	-0.6028	----	-0.8603	TDI
	-0.2878	0.7388	0.9340	----	-0.6879	Mes.dozë
	-0.4209	0.8718	0.5076	0.4768	-0.5937	LD ₅₀ -5%

Tabela 6. Koefficientët e korrelacionit Pearson për lidhjet ndërmjet dozës së plumbit të përdorur dhe nivelit të sekretimit të hormoneve.

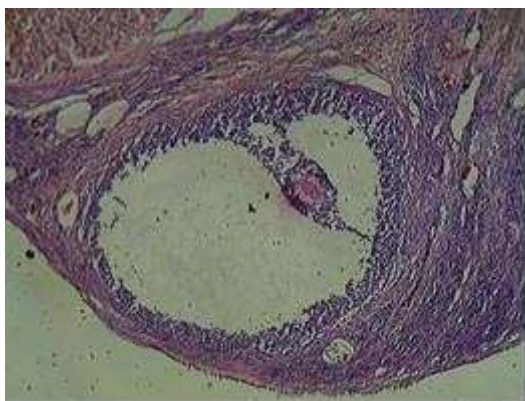


Figura 1. Folikul, grupi i kontrollit (10x)

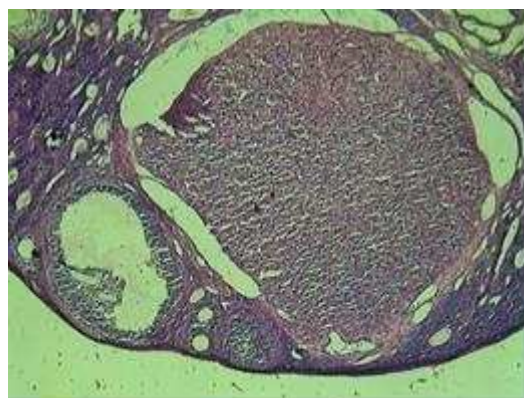


Figura 3. Folikula dhe trupi i verdhë, grupi Pb TDI (5x)

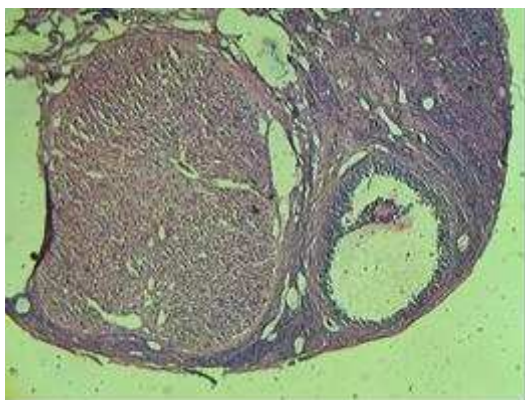


Figura 2. Folikul dhe trupi i verdhë, grupi i kontrollit (5x)

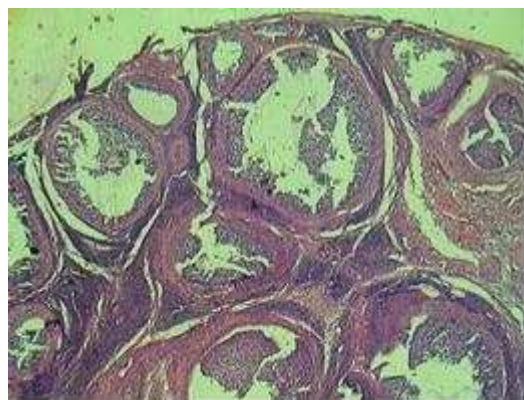


Figura 4. Folikula, grupi Pb Mes. dozë (5x)

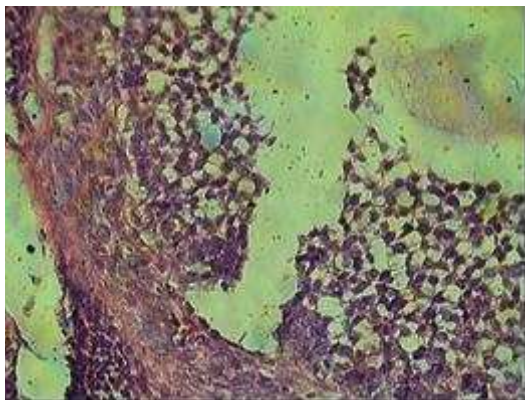


Figura 5. Folikul, grupi Pb Mes. dozë (40x)



Figura 6. Folikul, grupi Pb LD₅₀-5% (5x)

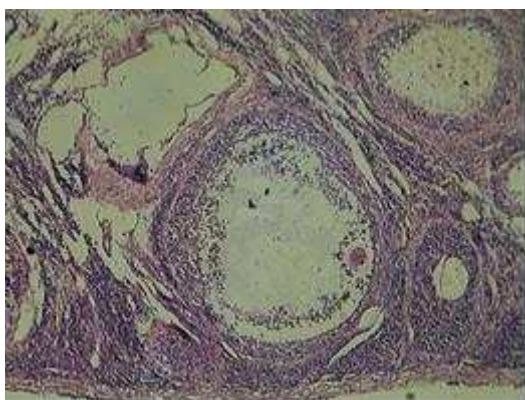


Figura 7. Folikula, grupi Pb LD₅₀-5% (10x)

KONKLUZIONE

Doza e plumbit e konsideruar si doza e tolerueshme ditore (TDI) nuk shfaq ndikime të dëmshme në morfologjinë apo histologjinë e gonadeve.

Ndryshimet histologjike në vezore si pasojë e toksikimit kronik nga plumbi shfaqen si procese degjenerative të tipit të nekrozave hemoragjike, atrofive, çorganizim të qelizave granuloze, shkëputje kontaktesh mes tyre dhe me qelizat e thekës, shtim i indit fibroz dhe ndalim i maturimit të folikulave.

Doza të ndryshme të këtyre dy metaleve mund të shfaqin efekte të ndryshme në sekretimin e të njëjtit hormon, sidomos kur krahasohet efekti i dozës TDI me efektin e dozës së ndërmjetme dhe atë të dozës LD₅₀-5%.

Doza TDI e plumbit shfaq ndikim të dobët në sekretimin e këtyre hormoneve, por ndërmjet tyre nuk mungojnë edhe korrelacione të forta ndërmjet nivelit të metalit në gjak dhe të hormoneve në serum si për shembull testosteroni dhe FSH në femrat e trajtuara me plumb.

Korrelacioni ndërmjet nivelit të plumbit në gjak në fund të periudhës së eksperimentimit dhe nivelit të sekretimit të hormoneve po në fund të eksperimentit, rezultoi i fortë dhe pozitiv për progesteronin ($r = 0,944$), testosteronin ($r = 0,963$) dhe LH ($r = 0,724$). Për estradiolin dhe FSH korrelacioni është i fortë negativ (respektivisht $r = -0,848$ dhe $r = -0,955$).

BIBLIOGRAFIA

- 1 AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY, (2005): Public Health Statement. Division of Toxicology and Environmental Medicine, Lead.
- 2 FEDRIP (2005): Draft for public comment. Lead health effects: 33-251.
- 3 FOSTER WG. (1992). Reproductive toxicity of chronic lead exposure in the female Cynomolgus monkey. *Reproductive Toxicology* 6:123-131.
- 4 FRANKS PA, LAUGHLIN NK, DIERSCHKE DJ, et al. (1989). Effects of lead on luteal function in Rhesus monkeys. *Biology of Reproduction* 41:1055-1062.
- 5 GERHARDSSON L, BRUNE D, NORDBERG GF, et al. (1986a). Distribution of cadmium, lead, and zinc in lung, liver, and kidney in long-term exposed smelter workers. *The Science of the Total Environment* 50:65-85.

6 GERHARDSSON L, ENDLYST V, LUNDSTROM NG, et al. (1995b). Lead in tissues of deceased lead smelter workers. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 9:136-143.

7 GUSTAFSON A, HEDNER P, SCHUTZ A, et al. (1989). Occupational lead exposure and pituitary function. *International Archives of Occupational Environmental Health* 61:277-281.

8 OLDEREID NB, THOMASSEN Y, ATTRAMADAL A, et al. (1993). Concentrations of lead, cadmium and zinc in the tissues of reproductive organs of men. *Journal of Reproduction and Fertility* 99:421-425.

9 TAUPEAU C, POUPON J, TRETON D, et al. (2003). Lead reduces messenger RNA and protein levels of cytochrome P450 aromatase and estrogen receptor beta in human ovarian granulosa cells. *Biology of Reproduction* 68:1982-1988.

10 TCHERNITCHIN NN, CLAVERO A, MENA MA, et al. (2003). Effect of chronic exposure to lead on estrogen action in the prepubertal rat uterus. *Environmental Toxicology* 18:268-277.