

## PRACE POGLĄDOWE

Helena Martynowicz  
Anna Skoczyńska  
Beata Karczmarek-Wdowiak  
Ryszard Andrzejak

### WPŁYW KADMU NA FUNKCJĘ GONAD MĘSKICH

EFFECTS OF CADMIUM ON TESTIS FUNCTION

Z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego Akademii Medycznej we Wrocławiu

**STRESZCZENIE** Upośledzenie płodności mężczyzn, stwierdzone w badaniach epidemiologicznych w ostatnich dekadach, można wiązać z narastającym narażeniem na działanie gonadotoksyn środowiskowych, wśród których wyjątkowe miejsce, ze względu na rozpowszechnienie i toksyczność, mają metale ciężkie, a szczególnie kadm. Mechanizmy działania kadmu w jądrach są złożone i obejmują uszkodzenie śródbłonna naczyniowego, komórek rozrodczych, Leydiga i Sertoliego oraz połączeń międzykomórkowych. Metal ten, nasilając działanie wolnych rodników tlenowych, wywołuje zmiany aktywności systemów enzymatycznych i indukcję reakcji zapalnej. Zmiany morfologiczne, wywołane przez kadm, obejmują martwicę kanalików nasiennych i obrzęk śródmiąższowy. Metal ogranicza na różnych poziomach syntezę testosteronu oraz upośledza spermatogenezę, jest również uznanym karcynogenem działającym mutagennie i genotoksycznie. Coraz częściej rozpoznawane upośledzenie płodności u mężczyzn można wiązać z rosnącą ekspozycją środowiskową i wciąż istniejącą ekspozycją zawodową na kadm oraz rozpowszechnieniem nałogu palenia tytoniu. *Med. Pr.*, 2005;56(2):167–174

Słowa kluczowe: kadm, jądra, testosteron

**ABSTRACT** The deterioration of male fertility, reported in numerous epidemiological studies over past decades, can be connected with growing exposure to environmental toxins. Heavy metals, especially cadmium, is widely spread and extremely toxic. The mechanisms of cadmium toxic effects vary and involve the damage of vascular endothelium, intracellular junctions, germ cells, Leydig and Sertoli cells. Cadmium can increase activity of reactive oxygen species and induce changes in activity of enzymatic systems and inflammatory reactions. The morphological changes caused by cadmium included the necrosis of seminiferous tubules and interstitial edema. This metal can reduce testosterone synthesis at various levels and deteriorate spermatogenesis. Cadmium is also acknowledged carcinogen with confirmed mutagenic and genotoxic activity. Increasing environmental exposure to cadmium, currently existing occupational exposure and the prevalence of tobacco smoking results in constant increase in the number of diagnosed fertility impairments. *Med Pr* 2005;56(2):167–174

Key words: cadmium, testis, testosterone

Adres autorów: Pasteura 4, 50-367 Wrocław, e-mail: helenamr@poczta.onet.pl

Nadesłano: 1.03.2005

Zatwierdzono: 24.03.2005

© 2005, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

### ŹRÓDŁA NARAŻENIA NA KADM

Badania epidemiologiczne wskazują na upośledzenie płodności mężczyzn w ostatnich dekadach. Metaanalizy dotyczące parametrów nasienia wykazały, iż w ciągu ostatnich 5 dekad o około 50% zmniejszyła się liczba plemników w nasieniu, objętość, a także nastąpiła redukcja innych parametrów (1,2). Ponadto coraz częściej w populacji europejskiej występuje rak jądra i zaburzenia rozwoju cielesno-płciowego (3). Zmiany te można wiązać między innymi z narastającym narażeniem na działanie gonadotoksyn środowiskowych, wśród których szczególne miejsce, ze względu na roz-

powszechnienie i toksyczność, mają metale ciężkie, a szczególnie kadm. Naturalnymi źródłami kadmu, podobnie jak ołowiu, są wietrzejące skały, erupcje wulkaniczne oraz pożary lasów, jednak ponad stukrotnie większa jest emisja antropogenna tych metali do atmosfery, przede wszystkim podczas spalania oleju, spopielenia odpadów i spalania węgla. Kadm jest stosowany również jako zabezpieczenie antykorozyjne oraz w produkcji baterii niklowo-kadmowych. Ważnym źródłem kadmu jest także przemysł metali nieżelaznych, zwłaszcza cynku, ołowiu i miedzi oraz stoso-

wane w rolnictwie nawozy mineralne, wykorzystujące odpady przemysłowe. Istotnym źródłem narażenia na kadm (w grupie niepalącej tytoniu i nienarażonej zawodowo) jest żywność pochodzenia roślinnego, której zanieczyszczenie jest wynikiem skażenia wód powierzchniowych i gleby w okolicach zakładów przemysłowych. Dym tytoniowy jest natomiast głównym źródłem kadmu u palaczy. Łączne wchłanianie kadmu, pochodzącego z różnych źródeł przez osoby palące tytoń, nienarażone zawodowo, wynosi około 6–8 µg Cd/dzień (4).

Zagadnienie oddziaływania kadmu na męski układ rozrodczy jest ważne ze względu na stale zwiększające się obciążenie tym metalem. Z badań epidemiologicznych wynika, że stężenie kadmu we krwi wzrasta w populacjach europejskich (5). W krajach uprzemysłowionych próg bezpiecznego przyjęcia kadmu u osób dorosłych wynosi od 51 to 71 µg/na dzień (6). Metal ten dostaje się do organizmu głównie drogą pokarmową i oddechową i chociaż wchłania się jedynie w 5–10%, to jego wydalanie nie przekracza 0,01% ilości kadmu przyjmowanego w ciągu dnia. Wynikiem tego jest długi okres biologicznego półtrwania kadmu, oceniany u ludzi na 16–38 lat.

Gonady są uważane za narząd szczególnie wrażliwy na działanie toksyn środowiskowych (7). Szczególnie niebezpieczne są metale ciężkie, a wśród nich kadm (8–10). Molekularne podstawy toksyczności kadmu pozostają niejasne. Główną strukturą docelową na poziomie subkomórkowym są mitochondria. Zmniejszając aktywność oksydazy bursztynianowej i cytochromowej kadm powoduje rozkojarzenie fosforylacji oksydatywnej kwasu bursztynowego i cytrynowego. Blokując grupy dwutiolowe metal ten wstrzymuje produkcję endogennego NADH i upośledza syntezę ATP (11). Prawdopodobnie te procesy mają związek z prooksydacyjnym, mutagennym i hipertensyjnym, działaniem kadmu (12). Ponadto kadm zaburza proces oddychania wewnątrzkomórkowego przez wpływ na homeostazę wapnia. Hamuje translokację jonów wapnia w mitochondriach hepatocytów i komórek nerkowych, a także działanie związanej z błonami Na/K ATP-azy (13).

Niezwykle istotne wydaje się narażenie w okresie prenatalnym na toksyczne działanie kadmu. Metal ten powoduje szereg zmian płodu zwierząt doświadczalnych, między innymi zaburzenia organogenezy, zstępowania jąder i modyfikację zachowań seksualnych (14). Jest prawdopodobne, że narażenie na kadm w okresie płodowym może być przyczyną zmian mor-

fologicznych i funkcjonalnych jąder, ujawniających się dopiero w okresie życia dojrzałego.

## WPŁYW KADMU NA STEROIDOGENEZĘ I SPERMATOGENEZĘ

Kadm jest jednym z wielu (podobnie jak hipertermia, hormony środowiskowe, DDT) czynników upośledzających funkcję jąder. Jądra uczestniczą w dwóch zasadniczych procesach: w wytwarzaniu hormonów płciowych oraz spermato- i spermioogenezie.

Mechanizmy toksycznego działania kadmu na komórki Leydiga pozostają wciąż niewyjaśnione. W badaniach histopatologicznych wykazano uszkodzenia naczyń krwionośnych jąder, przy czym niezwykle istotne wydaje się uszkodzenie śródbłonka naczyniowego (15), który jest szczególnie wrażliwy na ten metal. Świadczy o tym porównanie skutków działania kadmu na hodowle komórek śródbłonka oraz np. fibroblastów (16). Mechanizmy toksycznego działania kadmu na śródbłonek są złożone i obejmują między innymi: wpływ na funkcję wydzielniczą i działanie mediatorów śródbłonkowych, proliferację komórek śródbłonka, procesy angiogenezy, układ krzepnięcia i fibrylizacji, układ oksydoredukcyjny, uszkodzenie systemu ekspresji genów i E-kadheryny (Ca<sup>2+</sup> zależnej cząsteczki o funkcji polaryzującej i uszczelniającej śródbłonek) oraz modyfikację procesów zapalnych (17).

Uszkodzenie jąder, w wyniku ekspozycji na kadm, może być przynajmniej częściowo uważane za zjawisko wtórne do dysfunkcji śródbłonka naczyniowego. Kadm podany dootrzewnowo, w badaniach doświadczalnych na szczurach, uszkadza naczynia krwionośne jąder w dawkach powyżej 1 mg/kg m.c., w dawkach mniejszych powoduje upośledzenie spermato- i spermioogenezy (18). Zaburza także (podany dootrzewnowo w dawce 0,2–0,8 mg Cd/kg m.c.) ruchliwość plemników, co jest wczesnym i wartościowym markerem toksycznego wpływu kadmu na gonady i tym samym na płodność (19).

Stres oksydacyjny, powodowany przez nadmiar wolnych rodników tlenowych oraz niedobór antyoksydantów, jest jednym z głównych mechanizmów uszkodzenia jąder pod wpływem ekspozycji na kadm. Kadm jest źródłem wolnych rodników tlenowych w narządach ludzi i zwierząt doświadczalnych. Szczególnie wrażliwe na działanie stresu oksydacyjnego są jądra (20), a wolne rodniki tlenowe są niewątpliwie ważnym czynnikiem je uszkadzającym. Zastosowanie kadmu w dawce 0,20 mg/100g m.c. u szczurów powo-

duje znaczące obniżenie poziomu m-RNA białkowego regulatora steroidogenezy (StAR–mRNA), obniżenie aktywności enzymów uczestniczących w syntezie testosteronu:  $\Delta^5$ -3 $\beta$  i 17- $\beta$  dehydrogenaz hydroksysteroidowych i w konsekwencji zmniejszenie jego syntezy. Zmianom tym towarzyszy podwyższenie poziomu ROS (reaktywne formy tlenu; reactive oxygen species), MDA oraz obniżenie aktywności antyoksydantów: glutationu zredukowanego (GSH) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), co potwierdza zjawisko stresu oksydacyjnego (21). Kadm wywołuje zmiany w układzie oksydoredukcyjnym: wzrost stężenia dialdehydu malonowego (MDA) i glutationu zredukowanego (GSH) oraz obniżenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), czemu towarzyszy fragmentacja nici DNA (22). W jądrach samców myszy kadm hamuje aktywność dehydratazy kwasu delta-amino-lewulinowego (delta-ALA-D) i SOD, obniża stężenie kwasu askorbinowego, nasila peroksydację lipidów oraz powoduje fragmentację DNA. Związki chelatujące, DMSA (kwas dimerkapto-turobursztynowy), w dawce 400  $\mu\text{mol/kg}$  m.c. i PhSe<sub>2</sub> (difenylodwuselenek), w dawce 100  $\mu\text{mol/kg}$  m.c. mają zdolność zapobiegania toksycznemu działaniu kadmu. Związki te normalizują stężenie delta-ALA-D i poziom peroksydacji lipidów, pozostając jednak bez wpływu (stosowane pojedynczo i w kombinacji) na aktywność SOD i poziom kwasu askorbinowego (23).

Kadm podany dootrzewnowo, w jednorazowej dawce (3,58 mg CdCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O /kg m.c.), wywołuje też śródmiąższowy obrzęk i martwicę w kanalikach nasiennych. U zwierząt narażonych na kadm i nikiel jednocześnie obserwowano jedynie obrzęk śródmiąższowy (24). Fakt ten może świadczyć o ochronnym działaniu niklu w jądrach szczurów zatrutowanych kadmem.

W małych dawkach (0,13 mg/100g m.c.) metal ten powoduje głównie apoptozę, w większych obserwuje się raczej nekrozę komórkową (25). Kadm doprowadza także do zmniejszenia masy jąder, co jest oczywistym dowodem ich uszkodzenia (26). Obniżenie populacji komórek rozrodczych, między innymi w wyniku apoptozy, prowadzi do zmian najczęściej nieodwracalnie upośledzających ich funkcje i płodność. W jądrach szczególnie obficie występuje konstytutywny enzym – oksygenaza hemowa (HO-2) oraz indukowany przez stres enzym HO-1, będące źródłem biliwerdyny IX $\alpha$ , dwuwartościowego żelaza oraz tlenku węgla. Kadm podany podskórnym w dawce 10 lub 20  $\mu\text{mol/kg}$  m.c. indukuje aktywność HO-1 (oksygenazy hemu), zwiększa stężenie tlenku węgla, wywołuje apoptozę ko-

mórek rozrodczych oraz hamuje aktywność cytochromu P-450, ograniczając proces steroidogenezy (27). W jądrach szczurów zatrutowanych kadmem w dawce 10  $\mu\text{mol/kg}$  obserwowano także obniżenie poziomu ekspresji receptora mRNA dla hormonu luteinizującego oraz cAMP (28).

Komórki Sertoliego są niezbędne do prawidłowego przebiegu procesu spermatogenezy. Działanie toksyn jądrowych (np. DDT, pentachlorofenolu, dieldryny, dinitrobenzenu, cisplatyny, gossypolu, bisfenolu A i tert-octylfenolu) polega między innymi na uszkodzeniu połączeń międzykomórkowych, ograniczeniu ich liczby lub zmianie wewnątrzkomórkowej lokalizacji białek błonowych. W badaniach doświadczalnych *in vitro* stwierdzono, że uszkodzenia białek strefy zamykającej (zonula occludens-1; ZO-1), N-kadheryny oraz szczególnie koneksyny 43 (Cx43) mogą wskazywać na wczesny etap toksycznego działania kadmu (29). Uszkodzenie bariery krew-jądro jest związane ze znaczącą redukcją jądrowej okludyny w nabłonku nasiennym, co obserwowano w hodowli komórkowej komórek Sertoliego, poddanych ekspozycji na kadm. Uszkodzenia połączeń międzykomórkowych są więc jednym z istotnych mechanizmów toksycznego działania kadmu (30,31).

Z kolei inhibitory fosfodiesterazy (np. metylksantyna izobutylova, rolipram, zaprinast, zardaveryna) nie zmieniają składników kompleksów połączeń międzykomórkowych, takich jak okludyny, ZO-1, N-kadheryny, koneksyny 43, ale powodują gwałtowną i nieodwracalną redystrybucję tych białek do kompartmentu cytoplazmatycznego. Szczególnie wrażliwe na działanie kadmu są mitochondria komórek Sertoliego. Procent uszkodzeń mitochondriów, obserwowanych w mikroskopie elektronowym, zależy od dawki i czasu ekspozycji. Kadm powoduje większe uszkodzenia niż ołów, przy czym największe uszkodzenia mitochondriów obserwuje się przy ekspozycji złożonej kadmu i ołowiu (32). Fakt ten jest ważny ze względu na często współistniejąca, złożoną ekspozycję zawodową i środowiskową. Występowanie tego rodzaju ekspozycji np. u pracowników hut metali ciężkich może być przyczyną uszkodzenia komórek Sertoliego i zaburzonej spermatogenezy u osób narażonych na toksyczne działanie ołowiu i kadmu.

Podsumowując, mechanizmy oddziaływania kadmu na proces steroidogenezy i spermatogenezy są złożone i obejmują indukcję stresu oksydacyjnego, wzrost stężenia ROS, uszkodzenie śródbłonka naczyńniowego,

komórek Leydiga i Sertoliego, połączeń międzykomórkowych oraz upośledzenie syntezy testosteronu.

### Kadm i mediatory reakcji zapalnej w jądrach

Kadm jest znanym czynnikiem indukującym reakcje zapalne poprzez wpływ na mediatory zapalne, cząsteczki adhezji komórkowej, interleukiny oraz śródbłonkowe czynniki wazoaktywne.

W badaniach doświadczalnych przeprowadzonych na szczurach, kadm stosowany w iniekcjach podskórnych w dawce 10  $\mu\text{mol/kg}$  m.c., powoduje wzrost stężenia jądrowej prostaglandyny  $F_{2\alpha}$  ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ), przy czym zmianom tym towarzyszy obniżenie stężenia testosteronu we krwi. Zastosowanie cynku, (charakteryzującego się działaniem ochronnym – w wyniku interakcji z kadmem) powoduje znaczące statystycznie obniżenie poziomu prostaglandyny  $\text{PGF}_{2\alpha}$  oraz wzrost stężenia testosteronu. Kadm podany podskórnie (w dawkach 1 i 5  $\mu\text{mol/kg}$ ) nie wpływa na stężenie  $\text{PGF}_{2\alpha}$  i testosteronu. Ponadto kadm podany podskórnie w dawce 10  $\mu\text{mol/kg}$  hamuje ekspresję białka StAR, modulującego między innymi aktywność steroidogenezy (33).

W homogenatach jąder (i mięśnia sercowego) szczurów zatrutowanych kadmem dootrzewnowo w dawkach 0,5 i 1,0 mg Cd/kg m.c. obserwowano podwyższone stężenie tlenku azotu (NO) oraz czynnika martwicy guza alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ; tumor necrosis factor- $\alpha$ ) (34).

Zastosowanie cynku u zwierząt doświadczalnych, narażonych na działanie kadmu, poprawia jakość nasienia, podwyższa w nim stężenie interleukiny-4 (IL-4), ale obniża stężenie  $\text{TNF-}\alpha$  i interferonu- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Stosowanie diety ubogiej w cynk z kolei prowadzi do akumulacji kadmu w jądrach, w stopniu zbliżonym do tej, która pojawia się w wyniku ekspozycji na ten metal. Cynk ogranicza toksyczność kadmu między innymi przez wpływ na zwiększenie ekspresji cytokin komórek T-helper 2 (35).

Podprzewlekłe narażenie na kadm podawany doustnie szczurom w dawkach 0,5 i 20 mg/kg m.c. przez 6 tygodni powoduje także obniżenie aktywności enzymów fosfatazy alkalicznej (ALP) i dehydrogenazy mleczanowej-X (LDH-X) w jądrach, zmniejszenie produkcji nasienia oraz, podobnie jak w narażeniu ostrym, upośledzenie produkcji testosteronu (36).

Kalmodulina jest niskocząsteczkowym białkiem wiążącym specyficznie wapń, biorącym udział w aktywowaniu wielu enzymów. Kadm jest substytutem jonów wapnia w tym białku i w ten sposób aktywuje kalmodulinozależne enzymy. Aktywacja kalmodulinozależnych enzymów przez kadm może być to jeden

z mechanizmów szkodliwego wpływu tego metalu na gonadę męską. Inhibitory kalmoduliny (trifluoperazy-na, chlorpromazy-na) normalizują masę jąder u myszy zatrutowanych kadmem (37), co może potwierdzać ich ochronne działanie.

Jednym z najbardziej znaczących źródeł kadmu, oprócz ekspozycji zawodowej i stale rosnącej ekspozycji środowiskowej, jest palenie tytoniu. Metal ten gromadzi się w nasieniu osób palących powyżej 20 papierosów dziennie, ale u wszystkich palaczy stwierdza się w nasieniu obniżony poziom cynku (38). Nasienie palaczy tytoniu wykazuje redukcję ilości plemników (39). Nawet niewielka ekspozycja na kadm ( $\text{Cd} < 10 \mu\text{g/L}$  we krwi) i ołów ( $\text{Pb} < 400 \mu\text{g/L}$  we krwi) może w sposób znaczący pogarszać jakość nasienia (liczebność, ruchliwość i przeżywalność plemników) (40). Kadm obecny w ludzkim nasieniu powoduje niszczenie DNA w plemnikach, przed czym może częściowo chronić selen (41).

Kadm więc wpływa na stężenie mediatorów reakcji zapalnej (prostaglandyny  $F_{2\alpha}$ , tlenku azotu,  $\text{TNF-}\alpha$ ) oraz zmienia stężenie enzymów zapalnych (fosfatazy alkalicznej i dehydrogenazy mleczanowej) w gonadzie męskiej, co może świadczyć o modyfikacji procesów zapalnych przez ten metal. Szczególnie narażeni na toksyczne działanie tego metalu są palacze tytoniu, u których kadm może powodować znaczące pogorszenie jakości nasienia.

### KARCINOGENNE DZIAŁANIE KADMU W JĄDRACH

Kadm jest uznanym karcynogenem. Działa mutagenie i genotoksycznie. W hodowlach komórkowych poddanych działaniu kadmu obserwowano fragmentację nici DNA, mutacje i aberracje chromosomowe. Wykazano związek między działaniem kadmu i występowaniem nowotworów jąder, a także płuc, stercza i szpiku kostnego (42). Mechanizmy karcynogenne działania kadmu są złożone i obejmują między innymi uszkodzenie materiału genetycznego przez hamowanie aktywności enzymatycznych systemów lub/i działanie mediatorów zapalnych oraz działanie wolnych rodników tlenowych (43–45).

W wyniku podania kadmu w dawce 30  $\mu\text{mol/kg}$  (karcynogennej) podskórnie obserwowano w pierwszych 12 godzinach nasilone krwotoczne zapalenie jąder. Sześć do dziewięciu godzin po ekspozycji na kadm wzrastała w komórkach Leydiga aktywność oksydazy ksantynowej. Dwadzieścia godzin po ekspozycji stwierdzono podwyższony poziom LPO, żelaza, i nad-

tlenku wodoru oraz obniżenie stężenia GSH, katalazy, reduktazy i peroksydazy glutationu. Aktywność SOD pozostawała natomiast bez zmian. W ciągu 2–3 miesięcy dochodziło do atrofi ze zwapnieniami jąder. Obserwowane zmiany, w tym szczególnie podwyższony poziom LPO, po podaniu dawki kancerogennej, potwierdzają znaczenie stresu oksydacyjnego w procesie karcynogenezy i wzbudzanie mechanizmów obrony antyoksydacyjnej w odpowiedzi na działanie kadmu w jądrach zatrutowanych szczurów (46).

Kadm, podany szczurom podskórnie w dawce 20  $\mu\text{mol/kg}$  m.c., hamuje również w jądrach szczurów aktywność enzymu 8-oxo-dGTP-azy i tym samym zwiększa poziom 8-oxo-2'-deoxyguanozyny. 8-oxo-dGTP-aza jest enzymem chroniącym przez wbudowaniem promutagennej 8-oxo-2'-deoxyguanozyny (8-oxo-dG) powstałej wyniku działania oksydantów. Tym samym zahamowanie aktywności tego enzymu sprzyja karcynogenezie (47).

Ekspresja antymutagennego enzymu MTH1 (pifosfohydrolazy 8-okso-2'-deoxyguanozyny-5'-trifosforanu) jest szczególnie wyraźna w akrosomach i innych organellach plemników. Zastosowanie kadmu w dawce 20  $\mu\text{mol/kg}$  m.c. powoduje zmiany dystrybucji komórkowej MTH1. Ostremu zatruciu kadmem u szczurów towarzyszy obniżenie ekspresji MTH1, a zatruciu przewlekłemu wzrost ekspresji tego białka (48). Zmiany ekspresji antymutagennego MTH1 mogą sprzyjać karcynogenezie w jądrach szczurów poddanych ekspozycji na kadm.

Karcynogenne działanie kadmu polega również na niszczeniu cząsteczek tlenu azotu oraz innych toru sygnalizacyjnego w komórce, wrażliwych na zmiany aktywności oksydoredukcyjnej. Dotyczy to: S-nitrozotoli, białek aktywujących 1 (activating protein 1; AP-1), jądrowych czynników transkrypcyjnych: czynnika jądrowego kappaB (nuclear factor kappaB; NF-kappaB), hamującego czynnika kappaB (inhibitory kappaB; IkappaB) oraz białek kodowanych przez geny supresorowe nowotworów, takie jak p53 i p21ras, czego efektem może być karcynogeneza (49,50).

W procesie inicjacji karcynogenezy niewątpliwie uczestniczą wolne rodniki tlenowe, wśród których szczególną rolę zdaje się mieć nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), pod wpływem którego pojawiają się uszkodzenia nici DNA. Przed zmianami tymi częściowo chroni zastosowanie cynku i obecność GSH (51). Ekspozycja zawodowa na działanie kadmu (np. u pracowników hut metali ciężkich) niesie ze sobą zwiększone ryzyko nowotworu jąder (seminoma i guzy mieszane) (52).

Podsumowując, kadm jest uznanym karcynogenem, działa genotoksycznie, mutagenie, przy czym szczególnie istotne w procesie karcynogenezy jest działanie wolnych rodników tlenowych i obniżenie stężenia enzymów antyoksydacyjnych. Na szczególną uwagę zasługuje fakt częstszego występowania nowotworów jąder u osób zawodowo narażonych na działanie tego metalu.

## **MECHANIZMY OBRONNE PRZED TOKSYCZNYM DZIAŁANIEM KADMU W GONADZIE MĘSKIEJ**

Funkcje ochronne przed działaniem kadmu spełniają glutation i cysteina, zawierające grupy tiolowe. Indukowane przez kadm metalotioneiny (MT), niskocząsteczkowe białka bogate w cysteinę, powodują sekwestrację wolnych jonów kadmu i w ten sposób je inaktywują, ale są również odpowiedzialne za długi okres półtrwania kadmu w organizmie (53). Metalotioneiny wpływają na trzy zasadnicze procesy: wiązanie metali, takich jak: cynk, kadm i miedź, uwalnianie gazowych mediatorów, np. tlenu azotu, oraz wpływają na apoptozę. Jony kadmu mają powinowactwo do grup sulfhydrylowych i tiolowych, stąd zmiany pod wpływem kadmu w narządach docelowych dla tego metalu zależą od interakcji między kadmem a cząsteczkami zawierającymi te grupy. Metalotioneiny, występujące w tkankach u wielu gatunków zwierząt, a także bakterii oraz roślin, odgrywają znaczącą, ale nie do końca wyjaśnioną rolę w metabolizmie komórkowym. MT są obecne w gonadach pod postacią MT1 oraz MT2. Kadm może wpływać na procesy transkrypcji MT, co prowadzi do niskiego stężenia m-RNA w odpowiedzi na działanie kadmu. Opisywano jednak również niewielki wzrost lub niezmienny poziom m-RNA w jądrach u myszy. Kadm wpływa także na proces translacji MT. Opisano w komórkach śródmiąższowych jąder szczurów zatrutowanych kadmem brak wzrostu poziomu MT1 i MT2, mimo wzrostu poziomu m-RNA. Brak zdolności indukcji białka metalotionein, znanych ze swojej detoksykującej funkcji, w odpowiedzi na kadm w komórkach śródmiąższowych jąder, wydaje się jedną z głównych przyczyn ich szczególnej wrażliwości na toksyczne i karcynogenne działanie tego metalu (54). Interesujące wydaje się porównanie indukcji MT w jądrach i wątrobie zatrutowanych kadmem zwierząt. W wątrobie gryzoni następuje indukcja MT pod wpływem kadmu (w sposób zależny od dawki i czasu intoksykacji), natomiast w komórkach Sertoliego poziom MT pozostaje bez zmian w odpowiedzi na kadm

(55). Dane te tłumaczą szczególną wrażliwość gonad męskich na kadm.

Funkcje ochronne przed toksycznym działaniem kadmu pełnią również antyoksydanty: kwas askorbinowy i tokoferol. Zastosowanie suplementacji kwasem askorbinowym i tokoferolem, znanymi antyoksydantami, obniża poziom ROS, zapobiega wzrostowi MDA i normalizuje stężenie delta 5-3beta i 17-beta – dehydrogenaz oraz testosteronu w jądrach zatrutych zwierząt (21). Witamina C ogranicza procesy peroksydacji lipidów w jądrach szczurów zatrutych kadmem, zapobiega apoptozie komórek rozrodczych i hamuje indukowany przez kadm proces nekrozy komórkowej. Kwas askorbinowy poprawia spermatogenezę oraz przeżywalność komórek rozrodczych prawdopodobnie przez wymiatanie wolnych rodników generowanych w komórkach jądra przez jony kadmu (25). Witamina E ma zdolność mobilizowania kadmu z wątroby i nerek, nie obserwowano natomiast tego zjawiska w jądrach. Ogranicza ona jednak stres oksydacyjny, zmniejszając peroksydację lipidów w jądrach, przy czym poziom MT pozostaje bez zmian, co świadczy o odmiennych mechanizmach obronnych tych związków (56). Funkcje ochronne może spełniać również cynk, którego suplementacja ogranicza rozmiar apoptozy komórek jądra (57).

Mechanizmy działania kadmu w jądrach są więc złożone i obejmują uszkodzenie śródbłonna naczyniowego, komórek rozrodczych, Leydiga i Sertoliego oraz połączeń międzykomórkowych. Metal ten, nasilając działanie wolnych rodników tlenowych, wywołuje zmiany aktywności systemów enzymatycznych i indukcję reakcji zapalnej. Zmiany morfologiczne, wywołane przez kadm, obejmują martwicę kanalików nasiennych i obrzęk śródmiaższowy. Skutkuje to ograniczeniem (na różnych poziomach) syntezy testosteronu oraz upośledzeniem spermatogenezy.

## PIŚMIENNICTWO

- Nelson C.M., Bunge R.G.: Semen analysis: evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fertil. Steril.*, 1974;25:503–507
- Swan S.H., Elkin E.P., Fenster L.: Have sperm densities declined? A reanalysis of global trend data. *Environ. Health Perspect.*, 1997;105:1228–1232
- Parkin D.M., Muir C.S.: Cancer Incidence in Five Continents. Comparability and quality of data. *IARC Sci. Publ.*, 1992;120:45–173
- Raport Komisji Toksykologicznej Rady Sanitarnej-Epidemiologicznej. *Med. Pr.*, 1995;46:7–23
- Friberg L., Elinder C.G., Kjellstrom T.: Cadmium. *Environmental Health Criteria 134*. World Health Organisation, Geneva 1992
- WHO: Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. 41st Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Tech. Rep. Ser 837*. World Health Organisation, Geneva 1993
- Sokol R.Z.: The hypothalamic-pituitary-gonadal axis as a target for toxicants. W: Sipes I.C., McQueen C.A., Gandolfi A.J. [red]. *Comprehensive Toxicology*. Elsevier Science, Oxford 1997
- Kotsonis F.N., Klaaseen C.D.: Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1977;41:667–680
- Nath R., Prasad R., Palinal V.K., Chopra R.K.: Molecular basis of cadmium toxicity. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 1984;8:109–164
- Laskey J.W., Phelps P.V.: Effect of cadmium and other metal cations on *in vitro* Leydig cell testosterone production. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1991;108:296–306
- Tynecka Z., Malm A.: Energetic basis of cadmium toxicity in *Staphylococcus aureus*. *Biometals*, 1995;8:197–204
- Martel J., Marion M., Denizeau F.: Effect of cadmium on membrane potential in isolated rat hepatocytes. *Toxicology*, 1990;60:161–172
- Rajanna B., Hobson M., Harris L., Ware L., Chetty C.S.: Effects of cadmium and mercury on Na(+)-K+, ATPase and uptake of 3H-dopamine in rat brain synaptosomes. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*, 1990;98:291–296
- Salvatori F., Talassi C.B., Salzgeber S.A., Spinosa H.S., Bernardi M.M.: Embryotoxic and long-term effects of cadmium exposure during embryogenesis in rats. *Neurotoxicol. Teratol.*, 2004;26:673–680
- Nolan C.V., Shaikh Z.A.: The vascular endothelium as a target tissue in acute cadmium toxicity. *Life Sci.*, 1986;39:1403–1409
- Kishimoto T., Fukuzawa Y., Abe M., Isobe M., Hashimoto M., Tada M.: Cadmium injury of cultured human vascular endothelial cells. *Hum. Cell*, 1991;4:329–334
- Martynowicz H., Skoczynska A.: Wpływ kadmu na funkcje śródbłonna naczyniowego. *Med. Pr.*, 2003;54:383–388
- Hew K.W., Ericson W.A., Welsh M.J.: A single low cadmium dose causes failure of spermiation in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1993;121:15–21
- Xu L.C., Wang S.Y., Yang X.F., Wang X.R.: Effects of cadmium on rat sperm motility evaluated with computer assisted sperm analysis. *Biomed. Environ. Sci.*, 2001;14:312–317
- Kar A.B., Das R.P.: Testicular changes in rats after treatment with cadmium chloride. *Acta Biol. Med. Ger.*, 1960;5:153–173.
- Sen-Gupta R., Sen-Gupta E., Dhakal B.K., Thakur A.R., Ahnn J.: Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. *Mol. Cell*, 2004;17:132–139
- Yang J.M., Arnush M., Chen Q.Y., Wu X.D., Pang B., Jiang X.Z.: Cadmium-induced damage to primary cultures of rat Leydig cells. *Reprod. Toxicol.*, 2003;17:553–560
- Santos F.W., Oro T., Zeni G., Rocha J.B., do Nascimento P.C., Nogueira C.W.: Cadmium induced testicular damage and its response to administration of succimer and diphenyl diselenide in mice. *Toxicol. Lett.*, 2004;152:255–263
- Iscan M., Ada A.O., Coban T., Kapucuoglu N., Aydin A., Isimer A.: Combined effects of cadmium and nickel on testicular xe-

- nobiotic metabolizing enzymes in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2002;89:177–190
25. Sen Gupta R., Kim J., Gomes C., Oh S., Park J., Im W.B. i wsp.: Effect of ascorbic acid supplementation on testicular steroidogenesis and germ cell death in cadmium-treated male rats. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2004; 221:57–66
26. Biswas N.M., Sen Gupta R., Chattopadhyay A., Choudhury G.R., Sarkar M.: Effect of atenolol on cadmium-induced testicular toxicity in male rats. *Reprod. Toxicol.*, 2001;15:699–704
27. Ozawa N., Goda N., Makino N., Yamaguchi T., Yoshimura Y., Suematsu M.: Leydig cell-derived heme oxygenase-1 regulates apoptosis of premeiotic germ cells in response to stress. *Clin. Invest.*, 2002;109:457–467
28. Gunnarsson D., Nordberg G., Lundgren P., Selstam G.: Cadmium-induced decrement of the LH receptor expression and cAMP levels in the testis of rats. *Toxicology*, 2003;183:57–63
29. Fiorini C., Tilloy-Ellul A., Chevalier S., Charuel C., Poinis G.: Sertoli cell junctional proteins as early targets for different classes of reproductive toxicants. *Reprod. Toxicol.*, 2004;18:413–421
30. Lui W.Y., Wong C.H., Mruk D.D., Cheng C.Y.: TGF-beta3 regulates the blood-testis barrier dynamics via the p38 mitogen activated protein (MAP) kinase pathway: an *in vivo* study. *Endocrinology*, 2003;144:1139–1142
31. Sorenson D.R., Brabec M.: The response of adult rat sertoli cells, immortalized by a temperature-sensitive mutant of SV40, to 1,2-dinitrobenzene, 1,3-dinitrobenzene, 2,4-dinitrotoluene, 3,4-dinitrotoluene, and cadmium. *Cell Biol. Toxicol.*, 2003;19:107–119
32. Bizarro P., Acevedo S., Nino-Cabrera G., Mussali-Galante P., Pasos F., Avila-Costa M.R. i wsp.: Ultrastructural modifications in the mitochondrion of mouse Sertoli cells after inhalation of lead, cadmium or lead-cadmium mixture. *Reprod. Toxicol.*, 2003;17:561–566
33. Gunnarsson D., Svensson M., Selstam G., Nordberg G.: Pronounced induction of testicular PGF(2 alpha) and suppression of testosterone by cadmium-prevention by zinc. *Toxicology*, 2004;200:49–58
34. Chen L., Zhou J., Gao W., Jiang YZ. Action of NO and TNF-alpha release of rats with cadmium loading in malfunction of multiple system organ. *Sheng Li Xue Bao*, 2003;55:535–540
35. Al-Bader A., Omu A.E., Dashti H.: Chronic cadmium toxicity to sperm of heavy cigarette smokers: immunomodulation by zinc. *Arch. Androl.*, 1999; 3:135–140
36. Chen L., Ren W.H., Zhu S.L., Gao W., Zhou J., Jiang Y.Z. i wsp.: Effects of chronic cadmium loading on the testis and endocrine function of reproduction in male rats. *Sheng Li Xue Bao*, 2002;54:258–262
37. Niewenhuis R.J., Prozialeck W.C.: Calmodulin inhibitors protect against cadmium-induced testicular damage in mice. *Biol. Reprod.*, 1987;37:127–133
38. Oldereid N.B., Thomassen Y., Purvis K.: Seminal plasma lead, cadmium and zinc in relation to tobacco consumption. *Int. J. Androl.*, 1994;17:24–28
39. Chia S.E., Xu B., Ong C.N., Tsakok F.M., Lee S.T.: Effect of cadmium and cigarette smoking on human semen quality. *Int. J. Fertil. Menopausal Stud.*, 1994;39:292–298
40. Telisman S., Cvitkovic P., Jurasovic J., Pizent A., Gavella M., Roccic B.: Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ. Health Perspect.*, 2000;108:45–53
41. Xu D.X., Shen H.M., Zhu Q.X., Chua L., Wang Q.N., Chia S.E. i wsp.: The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermatozoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. *Mutat. Res.*, 2003;534:155–163
42. Goyer R.A., Liu J.: Waalkes M.P.: Cadmium and cancer of prostate and testis. *Biometals*, 2004;17:555–558
43. Calevro F., Beyersmann D., Hartwig A.: Effect of cadmium(II) on the extent of oxidative DNA damage in primary brain cell cultures from *Pleurodeles* larvae. *Toxicol. Lett.*, 1998;94:217–225
44. Kasprzak K.S.: Possible role of oxidative damage in metal-induced carcinogenesis. *Cancer Invest.*, 1995;13:411–430
45. Atesi I., Suzen H.S., Aydin A., Karakaya A.: The oxidative DNA base damage in testes of rats after intraperitoneal cadmium injection. *Biometals*, 2004;17:371–377
46. Koizumi T., Li Z.G.: Role of oxidative stress in single-dose, cadmium-induced testicular cancer. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1992;37:25–36
47. Białkowski K., Białkowska A., Kasprzak K.S.: Cadmium(II), unlike nickel(II), inhibits 8-oxo-dGTPase activity and increases 8-oxo-dG level in DNA of the rat testis, a target organ for cadmium(II) carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 1999;20:1621–1624
48. Kasprzak K.S., Nakabeppu Y., Kakuma T., Sakai Y., Tsuruya K., Sekiguchi M. i wsp.: Intracellular distribution of the antimutagenic enzyme MTH1 in the liver, kidney and testis of F344 rats and its modulation by cadmium. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2001;53:325–335
49. Buzard G.S., Kasprzak K.S.: Possible roles of nitric oxide and redox cell signaling in metal-induced toxicity and carcinogenesis: a review. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.*, 2000;19:179–199
50. Zhou T., Zhou G., Song W., Eguchi N., Lu W., Lundin E. i wsp.: Cadmium-induced apoptosis and changes in expression of p53, c-jun and MT-I genes in testes and ventral prostate of rats. *Toxicology*, 1999;142:1–13
51. Koizumi T., Li Z.G., Tatsumoto H.: DNA damaging activity of cadmium in Leydig cells, a target cell population for cadmium carcinogenesis in the rat testis. *Toxicol. Lett.*, 1992;63: 211–220
52. Rhomberg W., Schmoll H.J., Schneider B.: High frequency of metalworkers among patients with seminomatous tumors of the testis: a case-control study. 1: *Am. J. Ind. Med.*, 1995;28:79–87
53. Tohyama C., Satoh M., Kodama N., Nishimura H., Choo A., Michalska A. i wsp.: Reduced retention of cadmium in the liver of metallothionein-null mice. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 1996;1:213–216

- 
54. McKenna IM, Bare RM, Waalkes MP. Metallothionein gene expression in testicular interstitial cells and liver of rats treated with cadmium. *Toxicology*, 1996;107:121–130
55. Ren X.Y., Zhou Y., Zhang J.P., Feng W.H., Jiao B.H.: Metallothionein gene expression under different time in testicular Sertoli and spermatogenic cells of rats treated with cadmium. *Reprod. Toxicol.*, 2003;17:219–227
56. Singh R., Rana S.V.: Influence of antioxidants on metallothionein-mediated protection in cadmium-fed rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2002;88:71–77
57. Li J., Yi J., Wang C., Xu P.: Effect of cadmium on apoptosis of spermatogenic cells of rat testis and the protection effect of zinc against it. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2000;29:135–137