

FARELERDE KADMİYUMUN AKUT VE KRONİK TOKSİSİTESİ ÜZERİNE BAZI STEROİD YAPILI MADDELERİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*

Haki KARA Kadir SERVİ

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 04.01.1999

Invastigation of the Effects of Some Steroids on Acute and Chronic Cadmium Toxicity in Mice

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of steroid agents in cadmium-induced acute and chronic toxicity in mice. A total of 840 animals (420 male and 420 female) were used. Cadmium chlorid (1 mg/kg) was given with drinking water daily for three months. After this period, the animals were injected s.c. steroid agents and 24 h later tissue cadmium concentrations were determined by using Atomic Absorbtion Spectrophotometry and serum ALT, AST and BUN values were determined by using Auto Analyzator. Following chronic cadmium toxicity, liver and kidney cadmium levels were found to be increased some groups whereas decreased in the steroid treated groups. There were no significant changes in the serum concentrations of ALT, AST and BUN. It was observed that body weightof mice was decreased, henatocrit value was reduced an erythroctes were shrunk.

Acute cadmium toxicity was induced by s.c. injection of 1.8 and 3.6 mg/kg of cadmium chlorur. Both liver and kidney cadmium levels of males were found to be decreased when 1.8 mg/kg cadmium was applied with oestrogen, progesterone, prednizolone and oestrogen plus progesterone. In females, both liver and kidney cadmium levels were reduced after oestrogen, progesterone and prednizolone administration.

Both liver and kidney cadmium concentrations were decreased in all groups with the administration of 3.6 mg/kg cadmium chloride and several steroid agents whereas no changes were observed liver cadmium levels in the female mice treated testosteron. Mortality ranged 5-35% in these groups.

In both male and female mice received 1.8 and 3.6 mg/kg cadmium together with the steroid agents, serum ALT, AST levels were found to be increased, whereas BUN levels decreased.

In conclusion, in both male and female mice application of steroid agents altered the cadmium-induced toxicity and tissue disruption. Although liver and kidney cadmium levels were decreased following the administration of the steroids, damages were observed in the liver. When high doses of cadmium were applied together with the steroid agents, mortality occurred. Thus, it was suggested that hormonal status of the animals might have determining effects on cadmium-induced toxicity.

Key Words: *Cadmium toxicity, steroids, tissue disruption.*

ÖZET

Bu çalışma farelerde akut ve kronik kadmiyum toksisitesinde steroid yapılı maddelerin etkisinin araştırılması amacıyla yapıldı. Çalışmada 840 adet (420 erkek, 420 dişi) beyaz fare kullanıldı. Kadmiyum uygulaması akut ve kronik olarak yapıldı. Kronik uygulamalarda farelere 3 ay boyunca içme suları ile 1 mg/kg/gün kadmiyum klorür verilmesini takiben steroid preparatları uygulanarak 24 saat sonra doku kadmiyum düzeyleri Atomik Absorbsiyon

* Bu çalışma FÜNAF tarafından desteklenmiştir. Fünaf proje no : 175

Spektrosometri, Serum ALT, AST ve BUN düzeyleri Oto Analizör yardımıyla belirlendi. Kronik kadmiyum uygulamasından sonra steroid verilen grupların bazılarında karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeylerinde artış, bazılarında ise azalmalar olurken, serum ALT, AST ve BUN düzeylerinin değişmediği, farelerin ağırlık artışlarında ve hematokrit değerde azalma, eritrosit çaplarının ise küçüldüğü belirlendi.

Akut uygulamalarda kadmiyum klorür deri altı yolla 1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg dozunda uygulandı. 1.8 mg/kg kadmiyum klorür ile birlikte steroid preparatları uygulanan erkek farelerde testosterone verilenler hariç tüm gruptarda karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeyinin azaldığı, dişi farelerde ise progesteron ve prednisolon verilenlerde karaciğer, östrojen, progesteron ve prednizolon verilenlerde böbrek kadmiyum konsantrasyonunun azaldığı belirlendi.

3.6 mg/kg kadmiyum klorür ile steroidlerin verildiği tüm gruptarda böbrek böbrek kadmiyum düzeyleri, testosterone uygulanan dişi fareler hariç tüm gruptarda karaciğer kadmiyum düzeylerinde azalmalar ve %5-35 arasında değişen oranlarda ölümler saptandı.

1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyumla birlikte steroidlerin verildiği tüm gruptarda serum ALT ve AST düzeyleri artarken, BUN düzeylerinde azalmalar belirlendi.

Sonuç olarak erkek ve dişi farelerde akut ve kronik kadmiyum uygulamalarında steroid preparatlarının uygulanmasının kadmiyumin toksisitesini ve doku dağılımını değiştirdiği, gerek karaciğer gerek böbrek kadmiyum düzeylerinin azalması ile birlikte karaciğer hasarının arttığı ve özellikle yüksek dozlardaki kadmiyumla birlikte steroidler uygulandığında ölümlerin şekillendiği, kadmiyum toksisitesi üzerine vücutun hormonal durumunun önemli olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler; Kadmiyum toksisitesi, steroidler, doku dağılımı.

GİRİŞ

Toksik bir metal olan kadmiyum birçok endüstri kolunda, veteriner hekimlik ve diş hekimliğinde kullanıldığı, insan ve hayvanların hava, su ve gıdalarla kadmiyuma maruz kaldıkları belirtilmektedir (22, 23). Kadmiyumin kimyasal yapısı, yaşı, tür, cinsiyet, gebelik ve ortamda kalsiyum demir, çinko, kurşun gibi madde-lerin varlığı, kadmiyum tuzlarının suda eriyebilir olması ($CdCl_2$ gibi) emilme ve toksisiteyi değiştirdiği bildirilmiştir (4, 14, 32).

Kana karışan kadmiyumin ilk olarak karaciğere gelip 6 saat içerisinde kadmiyumin metabolizması, toksisitesi, inumun cevabının oluşması ve toksisiteden korunma gibi karışık fonksiyonlara sahip olan metallothionein (MT) adlı proteine bağlılığı, sonrasında hedef organ durumunda olan böbreğe taşındığı, büyük bir kısmının burada depolandığı, böbreğin yanısıra dalak, kas, testis, kemik gibi organ ve dokular da birliği bildirilmektedir (2, 5, 12, 13, 34).

Karaciğerde, kadmiyumin hepatositlerde toplanlığı, MT ile birleşerek Cd-MT kompleksi şeklinde böbreklere geldiği, böbreklerde bu kompleksin hücre plazma membranlarında ve mitokondrilerde hasar oluşturduğu ya da doğrudan nefrotoksin gibi etki gösterdiği, kadmiyum iyonlarına bağlı olan MT'in ayrılarak idrarla atıldığı kadmiyumin ise böbrek hücrelerinde depo edildiği bildirilmektedir (2, 5, 12). Kadmiyum iyonlarının

hücre membran yüzeyinde glutathion (GSH) bulunan bölgelere ilgi duyukları, glutathion depolarının tüketilmesi ile kadmiyum toksisitesinin veya letalitesinin artabileceği belirtilemiştir (27, 28).

Kadmiyumla zehirlenme olaylarında ishal, kusma, ağrı ve kramplar, zayıflama, özellikle postmenopozal dönemlerdeki kadınlarla kemiklerde dayanıksızlıkta azalmaya seyreden ağrı (itai-itai sendromu), eritrositlerde küçülme, karaciğer, böbrek ve testislerde patolojik lezyonların yanısıra kanserojenik ve mutajenik etkili olduğu (20), tedavide klasik antidotların (9, 12) yanısıra steroid yapılı maddelerle kadmiyum arasında ilişki bulunduğu ve steroid preparatlarının uygulanması ile MT sentezinin artığı, kadmiyum uygulanmasıyla da deneysel hayvanlarında böbrek üstü bezlerinden, testis ve ovaryumlardan salgılanan hormonların etkilendiği bildirilmiştir (3, 7, 8, 11, 17, 34).

Yapılan araştırmalarda (19), kadmiyumin testislerde hasar meydana getirdiği bölgenin özellikle östrojen biyosentezinin yapıldığı yer olduğunu, farelerde kadmiyumla şeiklenen damar hasarının östradiol benzoat uygulamasıyla reversibl olarak korunduğunu, belirtmektedir (7). Ayrıca steroid yapılı maddelerin MT sentezine neden oldukları ve sentezleme oranlarına göre B-östradiol, progesteron, prednizolon ve 17-metil

testosteron olduğu, gebe ve proöstrus devresindeki ratlardan elde edilen granulosa ve luteal hücrelere 5, 10, 20 ve 40 µg/ml kadmiyum klorür ve FSH yada LH'in 48 saat süre ile inkubasyondan sonra progesteron ve 17 β-östradiolin %44-65 oranında baskılardığını belirtmektedir (3, 18). Gebelik boyunca progesteron kontrolü altında kalan vücutta diğer fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin yanı sıra kadmiyumun metabolizmasında da değişiklik meydana geldiği (1, 4, 9), ratlara kadmiyum klorür uygulamasının testosterone düzeyini %80 oranında azalttığını ve testis ağırlık artışında gerileme olduğunu, önceden testosterone implantasyonunun bu durumları ortadan kaldırdığı belirtilmektedir (32).

Farelerde kadmiyumun neden olduğu toksisiteye karşı progesteronun koruyucu olduğu belirtmektedir (34). Shimada ve ark. (24) rat karaciğer hücrelerine in vitro ortamda tek başına progesteron verilmesiyle MT seviyesinin 2.4 kat, tek başına kadmiyum verilmesiyle 7 kat, progesteron ve kadmiyumun birlikte verilmesiyle ise 16 kat arttığını, ve sitosolik enzim aktivesinin arttığını, progesteron ön uygulamasının kadmiyum toksisitesini artırdığını, bir başka araştırmada da (25) duyarlı C3H ve rezistan C57 farelerine 5 mg/kg testosterone ve daha sonra C3H farelerine 20 µmol/kg ve C57 farelerinede 45 µmol/kg kadmiyum klorür uygulamasıyla duyarlı farelerde %50, rezistan olanlarda ise %6 ölüm şekillendiği, testosterone ön uygulamasının duyarlı farelerdeki ölümlere karşı etkisiz olduğunu ancak rezistan olan C57 farelerinde karaciğer hasar artışının testosterone tarafından önlediği ve MT sentezinin arttığını belirtmişlerdir.

Shiraishi ve ark. (26) ratlara deri altı yolla 10 ve 20 µmol/kg kadmiyum klorür ile 100mg/kg progesteron verilmesinden 24 saat sonra karaciğer kadmiyum konstantrasyonunun düşüğünü, BUN seviyesinin azaldığını, böbrek metallothionein düzeyi artarken karaciğer düzeyinin azaldığını ve progesteron + 20 µmol/kg kadmiyum klorür verilen hayvanların %53'ünün ani olarak biçimde öldüğünü belirtmektedirler.

Bu çalışmanın amacı, erkek ve dişi farelerde akut ve kronik kadmiyum uygulamasında, kadmiyumun doku düzeyi, serum ALT, AST ve BUN seviyeleri ve toksisitesi üzerine östrojen, progesteron, prednizolon ve testosteronun etkilerinin araştırılmasıdır.

MATERIAL VE METOT

Hayvan materyali: çalışmada 420 erkek 420 dişi olmak üzere 840 adet beyaz fare kullanıldı.

Uygulamalar:

a- Kronik uygulamalar: Bu uygulama şeklinde 10-12 haftalık fareler erkek ve dişi olarak ayrı edildikten sonra 3 ay süreyle içme suları ile günde 1mg/kg kadmiyum klorür verildi. Bu denemelerde her grup için 10'ar adet fare kullanıldı. Bir grup fare de kadmiyum klorür uygulaması yapılmadan aynı bakım ve besleme şartlarında tutuldu. 3 aylık periyodun sonunda hem erkek hemde dişi farelere deri altı yolla 5 mg/kg östrojen, 100 mg/kg progesteron, 5mg/kg östrojen + 50 mg/kg progesteron, 10 mg/kg prednizolon ve 10 mg/kg testosterone uygulaması yapıldı.

b- Akut uygulamalar: 20'ser hayvandan oluşan erkek ve dişi farelere kadmiyum klorür 1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg olacak şekilde iki ayrı dozda deri altı yolla verildi. Kadmiyum klorürün her iki dozuyla birlikte kronik uygulamalarda belirtilen miktarlarda steroid uygulandı.

Analiz İşlemleri: Uygulamalardan 24 saat sonra fareler öldürülerek kan ve doku numuneleri alındı. Kan numunelerinin bir kısmı kadmiyum analizinde, bir kısmında enzim düzeylerinin belirlenmesinde kullanıldı. Karaciğer, böbrek, dalak, kas ve erkek farelerin testisleri yağ dokudan arındırılarak tartılıp kadmiyum analizinde kullanıldı. Doku ve kan kadmiyum analizinde Wang ve ark. (32, 33)'nin önerdiği metot esas alınarak Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrisinde 228.8 dalga boyunda okundu. Serum ALT, AST ve BUN düzeyleri ise Oto Analizör yardımıyla belirlendi.

İstatistik Analizler: Çalışmada elde edilen sonuçlar, Stat view adlı bilgisayar programında Anova testi uygulanarak değerlendirildi.

BULGULAR

Akut ve kronik kadmiyum kolrür ve steroid preparatlarının uygulanmasından sonra erkek ve dişi farelerde doku ve kan kadmiyum düzeyleri, serum ALT, AST, BUN düzeyleri, ölüm oranları, hematokrit değer, eritrosit çapları ve ölüm oranları aşağıdaki tablolarda verilmiştir (Tablo 1-6).

Tablo 1. Kronik kadmiyum klorür ve steroid preparatları uygulanan erkek ve dişi farelerin doku ve kan kadmiyum düzeyleri.

Organ Gruplar	Karaciğer ($\mu\text{g/g}$)	Böbrek ($\mu\text{g/g}$)	Kas ($\mu\text{g/g}$)	Dalak ($\mu\text{g/g}$)	Kan ($\mu\text{g/ml}$)	Testis ($\mu\text{g/g}$)
CdCl ₂	Erkek 2.47±0.07	4.22±0.19	0.29±0.04	0.75±0.06	0.55±0.10	0.90±0.20
	Dişi 2.93±0.29	4.74±0.65	0.23±0.06	0.80±0.09	0.46±0.06	-
CdCl ₂ +öst	Erkek 2.18±0.10	4.22±0.08	0.35±0.07	0.62±0.07	0.57±0.08	0.78±0.06
	Dişi 1.13±0.12*	3.38±0.24*	0.23±0.05	0.69±0.18	0.49±0.05	-
CdCl ₂ +pro	Erkek 3.37±0.38*a	4.26±0.23	0.35±0.09	0.70±0.05	0.70±0.05	1.13±0.23
	Dişi 1.29±0.14*	3.22±0.12*	0.26±0.03	0.63±0.05	0.40±0.07	-
CdCl ₂ + öst+Pro	Erkek 2.33±0.08	4.70±0.14	0.31±0.05	0.82±0.08	0.82±0.08	0.94±0.12
	Dişi 1.29±0.14*	3.22±0.12*	0.26±0.03	0.63±0.05	0.40±0.07	-
CdCl ₂ +pred	Erkek 2.25±0.16	4.80±0.75*	0.35±0.07	0.76±0.04	0.54±0.07	0.85±0.10
	Dişi 2.88±0.39	4.74±0.61	0.20±0.02	0.89±0.10	0.50±0.03	-
CdCl ₂ +test	Erkek 2.0±0.23*	3.60±0.13*a	0.28±0.05	0.67±0.04	0.40±0.08	0.70±0.11
	Dişi 1.30±0.20*a	3.43±0.30*	0.20±0.01	0.70±0.05	0.49±0.03	-

* %95 güvenle önemli, p<0.001, a; gruplararası farklılıklar önemli.

Tablo 2. Kronik kadmiyum klorür uygulanan erkek ve dişi farelerin hemotokrit değer, eritrosit çapları ve ağırlık artışıları.

Süre	Hematokrit Erkek	değer (%) Dişi	Eritrosit Erkek	çapı (μ) Dişi	Ağırlık Erkek	artışı (g) Dişi
Başlangıç	51.5	51.0	6.5	6.5	32	32
90. gün	43.8	45.3	5.9	6.0	30	30

Tablo 3. 1.8 mg/kg kadmiyum klorür ve steroid preparatları uygulanan erkek farelerin doku ve kan kadmiyum düzeyleri.

Organ Gruplar	Karaciğer ($\mu\text{g/g}$)	Böbrek ($\mu\text{g/g}$)	Kas ($\mu\text{g/g}$)	Dalak ($\mu\text{g/g}$)	Kan ($\mu\text{g/ml}$)	Testis ($\mu\text{g/g}$)
CdCl ₂	Erkek 13.95±0.80	6.50±0.97	0.35±0.6	1.37±0.12	0.51±0.09	0.54±0.09
	Dişi 12.71±1.05	6.25±0.88	0.34±0.06	1.04±0.08	0.55±0.14	-
CdCl ₂ +öst	Erkek 12.67±0.81 *	6.60±0.64	0.42±0.07	1.29±0.17	0.55±0.09	0.49±0.10
	Dişi 11.88±2.21	5.03±0.92*	0.40±0.09	1.18±0.23	0.49±0.11	-
CdCl ₂ +pro	Erkek 8.63±2.27 *a	3.15±0.11*a	0.31±0.04	0.94±0.18*	0.62±0.10	0.44±0.10
	Dişi 7.50±0.93*a	3.20±0.14*a	0.40±0.09	0.90±0.12	0.68±0.13	-
CdCl ₂ + öst+Pro	Erkek 11.5±1.34*a	4.09±0.09*a	0.30±0.06	0.89±0.16*	0.59±0.09	0.75±0.06
	Dişi 13.15±1.58a	6.17±0.47	0.41±0.06	1.05±0.11	0.60±0.12	-
CdCl ₂ +pred	Erkek 10.7±1.34*a	3.87±0.30*a	0.27±0.04	0.98±0.13*	0.47±0.12	0.47±0.10
	Dişi 10.9±0.93a	5.39±0.51*	0.32±0.02	0.92±0.11	0.54±0.11	-
CdCl ₂ +test	Erkek 12.81±1.55	7.71±0.51*	0.32±0.06	1.11±0.18*	0.50±0.09	0.46±0.10
	Dişi 13.05±2.22a	5.80±0.74	0.34±0.04	0.69±0.21	0.70±0.21	-

*%95 güvenle önemli, p<0.001, a; gruplararası farklılıklar önemli.

Tablo 4. 3.6 mg/kg kadmiyum klorür ve steroid preparatları uygulanan erkek farelerin doku ve kan kadmiyum düzeyleri.

Organ Gruplar		Karaciğer ($\mu\text{g/g}$)	Böbrek ($\mu\text{g/g}$)	Kas ($\mu\text{g/g}$)	Dalak ($\mu\text{g/g}$)	Kan ($\mu\text{g/ml}$)	Testis ($\mu\text{g/g}$)
CdCl_2	Erkek	30.73 \pm 1.27	13.81 \pm 1.89	0.71 \pm 0.11	0.95 \pm 0.15	2.0 \pm 0.20	0.69 \pm 0.09
	Dişi	31.80 \pm 2.64	12.86 \pm 0.96	0.50 \pm 0.12	0.80 \pm 0.13	1.95 \pm 0.34	-
$\text{CdCl}_2+\text{öst}$	Erkek	25.63 \pm 5.61 *	7.80 \pm 1.24*a	0.82 \pm 0.13	0.99 \pm 0.15	1.97 \pm 0.19	0.66 \pm 0.07
	Dişi	26.45 \pm 3.81*a	6.70 \pm 0.76*a	0.62 \pm 0.09	0.82 \pm 0.14	2.04 \pm 0.29	-
CdCl_2+pro	Erkek	20.76 \pm 5.4 *a	8.59 \pm 1.61*a	0.82 \pm 0.10	1.09 \pm 0.31	1.93 \pm 0.12	0.65 \pm 0.10
	Dişi	17.60 \pm 3.93*a	7.75 \pm 0.75*a	0.52 \pm 0.10	0.88 \pm 0.16	1.97 \pm 0.13	-
$\text{CdCl}_2+\text{öst+Pro}$	Erkek	26.13 \pm 2.34*	10.99 \pm 0.79*	0.77 \pm 0.08	1.01 \pm 0.13	1.60 \pm 0.23*	0.75 \pm 0.06
	Dişi	24.82 \pm 4.92*a	10.73 \pm 1.11*	0.54 \pm 0.08	0.84 \pm 0.17	1.76 \pm 0.10	-
$\text{CdCl}_2+\text{pred}$	Erkek	27.70 \pm 2.52	11.46 \pm 1.26*	0.88 \pm 0.12	0.92 \pm 0.16	1.89 \pm 0.15	0.65 \pm 0.06
	Dişi	28.85 \pm 3.73	11.46 \pm 1.87*	0.55 \pm 0.08	0.82 \pm 0.15	1.82 \pm 0.21	-
$\text{CdCl}_2+\text{test}$	Erkek	27.66 \pm 2.66	11.79 \pm 1.26*	0.51 \pm 0.16*	0.81 \pm 0.13	1.82 \pm 0.15	0.69 \pm 0.07
	Dişi	30.18 \pm 2.97	10.60 \pm 1.50*	0.60 \pm 0.17	0.85 \pm 0.12	2.10-0.39	-

* %95 güvenle önemli, p<0.001, a; gruplararası farklılıklar önemli.

Tablo 5. 1.8 ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorür ve steroid preparatları uygulanan erkek ve dişi farelerin serum ALT, AST ve BUN seviyeleri.

Gruplar	ALT (IU/l)		AST (IU/l)		BUN (mg/dl)	
	(erkek)	(dişi)	(erkek)	(dişi)	(erkek)	(dişi)
Kontrol	43.5 \pm 5	44.2 \pm 3	26.2 \pm 3	27.0 \pm 3	22.5 \pm 1.2	23.4 \pm 1.0
1.8mg/kg CdCl_2 (1)	46.7 \pm 6	47.1 \pm 5	30.3 \pm 4	30.2 \pm 2	20.4 \pm 1.7	21.9 \pm 1.2
3.6 mg/kg CdCl_2 (2)	58.6 \pm 6 *	57.3 \pm 7 *	40.2 \pm 5 *	38.9 \pm 5 *	19.1 \pm 1.8	19.3 \pm 1.1 *
Östrojen	45.4 \pm 7	46.5 \pm 5	28.3 \pm 3	28.5 \pm 4	21.6 \pm 1.0	22.0 \pm 1.3
Progesteron	44.8 \pm 4	45.7 \pm 4	27.9 \pm 4	29.2 \pm 5	22.0 \pm 2.1	23.8 \pm 1.7
Öst+Pro.	45.0 \pm 5	47.0 \pm 2	28.4 \pm 2	29.0 \pm 3	22.4 \pm 1.3	22.7 \pm 1.5
Prednizolon	43.9 \pm 7	45.6 \pm 4	27.0 \pm 3	28.4 \pm 3	21.9 \pm 2.0	23.0 \pm 2.0
Testosteron	44.1 \pm 6	45.1 \pm 3	27.5 \pm 1	27.9 \pm 5	23.4 \pm 1.6	24.2 \pm 2.2
$\text{CdCl}_2+\text{Öst.}(1)$	63.3 \pm 6 *	64.8 \pm 6 *	45.8 \pm 6 *	46.3 \pm 4 *	20.1 \pm 0.8	21.6 \pm 0.8
$\text{CdCl}_2+\text{Öst. (2)}$	195.3 \pm 13 *	200.8 \pm 14 *a	105.8 \pm 8 *	103.5 \pm 10 *a	18.3 \pm 2.2 *	19.5 \pm 1.5 *
$\text{CdCl}_2+\text{Pro.}(1)$	65.4 \pm 8 *	67.6 \pm 5 *	44.5 \pm 4 *	47.2 \pm 5 *	19.8 \pm 1.2	21.5 \pm 1.4
$\text{CdCl}_2+\text{Pro. (2)}$	204.4 \pm 12 *	198.6 \pm 15 *	106.8 \pm 7 *	106.7 \pm 11 *a	17.4 \pm 2.0 *	18.8 \pm 2.0 *
$\text{Cd}+\text{Öst+Pro.}(1)$	63.8 \pm 5 *	70.2 \pm 7 *	46.4 \pm 5 *	48.0 \pm 3 *	19.5 \pm 1.5	21.3 \pm 1.7
$\text{CdCl}_2+\text{Öst+Pro.}(2)$	213.8 \pm 15 *a	210.2 \pm 13 *a	113.7 \pm 10 *a	109.1 \pm 12 *a	17.6 \pm 1.8 *	19.0 \pm 2.3 *
$\text{CdCl}_2+\text{Pred. (1)}$	56.2 \pm 4 *	60.3 \pm 5 *	38.5 \pm 3 *	43.4 \pm 5 *	20.3 \pm 1.4	21.0 \pm 1.2
$\text{CdCl}_2+\text{Pred. (2)}$	196.2 \pm 11 *	193.4 \pm 12 *	101.5 \pm 6 *	100.8 \pm 8 *	18.5 \pm 2.5 *	20.2 \pm 2.1 *
$\text{CdCl}_2+\text{Test. (1)}$	55.3 \pm 7 *	59.7 \pm 6 *	36.2 \pm 5 *	40.7 \pm 4 *	20.1 \pm 1.7	22.6 \pm 1.8
$\text{CdCl}_2+\text{Test. (2)}$	185.3 \pm 8 *a	195.5 \pm 16 *	98.6 \pm 11 *a	97.6 \pm 9 *	19.0 \pm 2.1 *	20.7 \pm 1.8 *

* %95 güvenle önemli, p<0.001, a; gruplararası farklılıklar önemli.

Tablo 6. 3.6 mg/kg kadmiyum klorür ve steroid preparatları verilen erkek ve dişi farelerin ölüm sayıları ve yüzdeleri.

Uygulama	Ölüm sayısı		Ölüm oranı %	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
Kontrol (CdCl_2)	0	0	0	0
Östrojen+3.6 mg/kg CdCl_2	5	3	25	15
Progesteron+3.6 mg/kg CdCl_2	7	4	35	20
Öst.+Prog. +3.6 mg/kg CdCl_2	6	3	30	20
Prednisolon+3.6 mg/kg CdCl_2	3	3	15	15
Testosteron+3.6 mg/kg CdCl_2	1	2	5	10

TARTIŞMA

Çeşitli nedenlerle vücuda alınan kadmiyumun karaciğere metallothionein ile kompleks oluşturarak, diğer organ ve dokulara dağıldığı ve kümülatif özellikle olduğu, (5, 6, 12, 13), kadmiyumla zehirlenmelerde ishal, kusma, düzensiz solunum, bilinc azalması, esansiyel hipertansiyon, ağrı ve kramplar, zayıflama, eritrositlerde küçülme, hemoglobin miktarında düşüş, hemotokrit değerde azalma, karaciğer ve böbrekte patolojik lezyonlar, testislerde eflatuni-mor bir renk değişimi ve spermatogenezisin bozulması, kemiklerde inceleme ve dayanıklılığın azalması görülebildiği bildirilmiştir (33, 35).

Tablo 2 incelendiğinde kronik olarak kadmiyum klorür verilen erkek ve dişi farelerin ağırlık artışında azalma, hamatokrit değerlerinde düşüş ve eritrosit çaplarında küçülmeler olduğu görülmektedir. Bu sonuçların Wong ve ark. (35)'in belirtmiş olduğu sonuçlara uygunluk göstermektedir. Canlı ağırlıktaki gerilemenin ve hematokrit değerdeki değişikliğin oral yolla alınan kadmiyumun barsak epitellerinde oluşturacağı hasar dolayısıyla amino asitler, kalsiyum ve demir gibi maddelerin yeterince absorbe edilememesinden kaynaklanacağı kanaatindeyiz.

Karaciğer kadmiyum konsantrasyonunun böbrek kadmiyum konsantrasyonuna oranı 1'den büyükse akut nitelikli bir zehirlenme, 1'den küçükse kronik tipte bir zehirlenme olduğu, vücuda alınan kadmiyumun böbreklere ve karaciğerde diğer organ ve dokulardan daha fazla birliğiği belirtilmektedir (15, 16, 22). Tablo 1, 3 ve 4 incelendiğinde akut ve kronik uygulama yapılan erkek ve dişi farelerin karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeylerinin bu sonuçlara uygun olduğu görülmektedir.

Tablo 1 incelendiğinde kronik olarak kadmiyum klorür verilen kontrol grubu hayvanlarda karaciğer kadmiyum düzeyi erkeklerde $2.47 \mu\text{g/g}$ ve dişilerde de $2.93 \mu\text{g/g}$ bulunurken, kronik kadmiyum uygulamasından sonra steroid verilen erkek ve dişi fareların karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeylerinin küçük değişiklikler olsada kontrol değerlerine yakın

olduğu görülmektedir. Bu gruplara steroid preparatlarının uygulanmasıyla serum ALT, AST ve BUN düzeylerinde dalgalanmalar meydana gelsede önemli omadığı, dolayısıyla kronik uygulamalardan sonra karaciğerde bir hasar şekillenmediği kanaatindeyiz.

Bracken ve Klaassen (3) steroid yapılı maddelerden MT sentezine yol açanları östradiol, progesteron, prednison ve prednizolon olarak sıralamış. 17-metiltestesteron ve aldesteron ise düşük düzeyde de olsa MT sentezine neden olduğunu belirtmişlerdir. Tablo 1 incelendiğinde kronik kadmiyum klorür uygulamasından sonra steroid yapılı maddelerin kadmiyumun doku dağılımını kısmen etkilediği ve meydana gelen değişikliklerin uygulanan steroidlerin MT sentezlenmesini uyarmalarındaki farklılıklardan ve bireysel farklılıklar dan kaynaklanabilecegi görüşündeyiz.

Kadmiyum tek başına veya çeşitli bileşiklerle verilmesinden sonra vücuttaki organ ve dokulara dağılımı ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Liu ve ark. (12) farelere $15 \mu\text{mol/kg}$ kadmiyumun periton içi yolla verilmesinden 24 saat sonra karaciğer, böbrek, dalak, üreme organları ve kas dokusundaki kadmiyum miktarının sırasıyla $15, 5, 1.5, 1.8$ ve $0.8 \mu\text{g/g}$ bulunduğu bildirmektedirler. Servi ve Kara (23) tavşanlara deri altı yolla $20 \mu\text{mol/kg}$ kadmiyum klorür uyguladıktan 24 saat sonra karaciğer, böbrek ve kas dokusundaki kadmiyum düzeylerini sırasıyla $41.4 \mu\text{g/g}$, $8.4 \mu\text{g/g}$ ve $0.26 \mu\text{g/g}$ olduğunu belirtmişlerdir. Akut uygulamalardaki erkek ve dişi kontrol gruplarında karaciğer, böbrek, kas, dalak, kan ve testislerde belirlenen kadmiyum miktarlarının yukarıda adı geçen yazarların belirtikleri sonuçlara uygunluk gösterdiği, görülen farklılıkların muhtemelen doz, uygulama şekli ve hayvan farkından ileri geldiği görüşündeyiz.

Kadmiyum ve östrojenle ilgili yapılan araştırmalarda testislerde kadmiyumun hasar meydana getirdiği bölgenin özellikle östrojen biyosentezinin yapıldığı yer olduğu, östradiol benzoatin kadmiyum hasarına karşı testisleri koruduğu (19), postmenopozal dönemde dişilik hormonlarının düzeylerinin azaldığı ve bu dönemde

fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerin yanı sıra kadmiyumun vücuttaki metabolizmasının da değişimine neden olduğu (1, 4), itai itai sendromu adı verilen hastalığında postmenopozal dönemdeki kadınlarda daha fazla görüldüğü bildirilmektedir (9, 32, 33).

Akut uygulamalarda 1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorür ile birlikte östrojen verilen gruplarda karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeylerinde önemli düşüşler olurken (Tablo 3,4), serum ALT ve AST düzeylerinde artışlar, BUN seviyelerinde azalma (Tablo 5) ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorür verilen erkek farelerden 5 (%25), dişi farelerden 3 (%15)'ünün uygulamadan 24 saat sonra olduğu görülmektedir (Tablo 6).

Östrojen uygulamasıyla elde edilen bu sonuçlar Parizek ve Zahor (19) ile Nishiyama ve ark. (17)'nın belirtmiş oldukları sonuçlara ters düşmektedir. Nishiyama erkek ratalarda östradiol ön tedavisinin çinko ve kadmiyumun birlikte verilmesiyle karaciğer ve böbrek kadmiyum ve çinko düzeyini artırdığını belirtmişlerdir. Karaciğer kadmiyum düzeyinin düşmesinin nedeninin uygulanan östrojenin karaciğerde MT sentezine yol açıp ortamındaki mevcut kadmiyumun büyük bir kısmının Cd-MT kompleksi şeklinde böbreğe taşınmasıyla, böbrekte ise kadmiyum ve östrojenin glutathion tüketimi artırmalarına bağlı olarak böbrek tubullerinde oluşan hasardan dolayı Cd-MT kompleksinin yeterince absorbe edilememesinden dolayı kadmiyum düzeyinin azaldığı, ölüm olaylarının ise karaciğer hasarının bir sonucu olduğu kanaatindeyiz.

Yapılan araştırmalarda (25, 34) ratalara deri altı yolla kadmiyum klorür ile progesteron uygulamasından sonra karaciğer kadmiyum konsantrasyonun ve BUN seviyesinin düşüğü, ani ölüm olaylarının şekillendiği, karaciğer MT düzeyi azalırken böbrek MT düzeyinin artığı, testiküler lezyonlara karşı progesteronun etkili olduğunu bildirmişlerdir. Shimada ve ark. (24) ise rat karaciğer hücrelerine in vitro şartlarda progesteron ve kadmiyum klorür uygulamasıyla karaciğer MT düzeyinin 16 kat arttığını belirtmişlerdir.

1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorürle birlikte 100 mg/kg progesteron verilen gruplarda karaciğer ve böbrek kadmiyum konsantrasyonun önemli oranda düşüğü ($P<0.001$), (Tablo 3,4), serum ALT ve AST düzeylerinin artığı, BUN seviyelerinin ise azalığı, (Tablo 5), 3.6 mg/kg kadmiyum klorür ve progesteron uygulaması yapılan erkek farelerde 7 (%35), dişilerde ise 4 (%20) adet ölüm meydana geldiği görülmektedir (Tablo 6).

Elde edilen bu sonuçlar Wolkowosky-Tyl ve Preston (34), Shiraiishi ve ark.(26) ve Shimada ve ark.(24)'nın sonuçlarına uygunluk göstermektedir. Karaciğer kadmiyum düzeyinin azalması progesteron tarafından MT sentezinin uyarılması sonucu oluşan Cd-MT

kompleksinin karaciğeri kolayca terkedip böbreklere geleceği, glutathionun tüketilmesine bağlı olarak bu kompleksin yeterince absorbe edilememesi ya da hücre içerisinde tutulamaması nedeniyle böbrek düzeyinin azaldığı, ölüm olaylarının ise kadmiyumla birlikte progesteronun uygulamasının kadmiyumun neden olduğu karaciğer toksisitesinin artırmasının bir sonucu olduğu görüşündeyiz.

Tablo 3, 4, incelemiğinde 1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorürle birlikte östrojen + progesteron verilen grupların karaciğer ve böbrek kadmiyum konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre önemli oranda azaldığı ($P<0.001$), serum ALT, AST düzeyleri artarken, BUN seviyelerinin gerilediği (Tablo 5) ve erkeklerde 6 (%30), dişilerde 3 (%20) adet ölüm olayı olduğu görülmektedir (Tablo 6).

Östrojen+progesteron verilmesinden sonraki doku kadmiyum düzeyi, serum ALT, AST ve BUN düzeylerinin östrojen ve progesteron tek başına kullanılmasıyla elde edilen sonuçlara yakın olduğu, şekillenen ölümlerin tek başına progesteron verilenlerden düşük, östrojen verilenlerden ise yüksek olduğu. Kull. iğe kadmiyum düzeylerinin azalmasının östrojen ve progesteronun MT sentezine yol açması ve kadmiyum, Cd-MT şeklinde karaciğerden kolayca böbreğe taşınacağı, böbrek kadmiyum düzeyinin azalmasının ise glutathion tüketiminin artmasını neticesi böbrekte meydana gelmiş olan bir harabiyetin sonucu şekillenebilceği, enzim düzeylerindeki değişikliklerden de anlaşılabileceği üzere ölüm olaylarının karaciğer harabiyetinin bir sonucu olacağı görüşündeyiz.

1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorürle birlikte prednizolon verilen hayvanların karaciğer kadmiyum düzeylerinin kontrol grubu farelerine göre istatistiksel olarak ($P<0.001$) düşüğü (Tablo 3, 4), serum ALT, AST düzeyleri yükselirken, BUN seviyelerinin azaldığı görülmektedir (Tablo 5). Yüksek doz kadmiyum klorür ile prednizolon verilen erkeklerde 3 (%15), dişilerde ise 3 (%15) adet ölüm olduğu görülmektedir (Tablo 6).

Kadmiyumla birlikte prednizolon uygulamalarından elde edilen bu sonuçlar östrojen ve progesteron ile elde edilen sonuçlara benzerlik göstermektedir. Fakat karaciğer ve böbrek kadmiyum düzeyleri, enzim düzeyindeki değişiklikler ve ölümler onlar kadar olmamıştır. Elde ettigimiz bu sonuçların Bracken ve Klaassen (3)'nın sonuçlarına uygunluk göstermektedir. Karaciğer kadmiyum düzeyinin azalmasının prednisolon uygulamasıyla sentezlenen MT'e kadmiyumun bağlanarak karaciğeri terketmesinden, böbrek kadmiyum düzeyinin ise böbrekte glutathion tüketimi sonucu şekillenen hasar nedeniyle kadmiyumun yeterince absorbe olamaması yada hücre içi organellere bağlanamaması sonucu. şe-

killenen ölümlerin karaciğer yetmezliği nedeniyle oluşabileceği kanaatindeyiz.

Kadmiyum ve testosteron ile ilgili Parizek (19) kadmiyumun oluşturduğu testis hasarına karşı testoteronun etkisiz olduğunu, Shimada ve ark. (25) kadmiyum klorür verilen rezistan farelerde %44-50 oranlarında ölüm meydana geldiğini, testosteron ön tedavisinin bu ölümler üzerine etkisiz kaldığını, ancak rezistan farelerde kadmiyumun neden olduğu karaciğer hasarının artmasını önlendiğini, Waalkes ve ark. (31) ratlarda kadmiyum enjeksiyonundan sonra testosteron seviyesinin azaldığını, testosteron implantasyonu ile kaybın telafi edildiğini belirtmektedirler.

Tablo 3 ve 4 incelendiğinde 1.8 mg/kg ve 3.6 mg/kg kadmiyum klorürle birlikte testosteron verilen grupların karaciğer ve böbrek kadmiyum konsantrasyonlarında düşüşler olduğu, serum ALT, AST düzeylerinde artış, BUN seviyelerinin ise azaldığı (Tablo 6), 3.6 mg/kg kadmiyum klorür testosteron uygulaması yapılan erkek farelerde 1 (%5), dişilerde ise 2 (%10)'sinde ölüm meydana geldiği görülmektedir (Tablo 10).

Elde ettiğimiz bu sonuçlar testosteron uygulamasının kadmiyumun doku dağılımı ve toksisitesini değiştirdiğini göstermektedir. Karaciğer kadmiyum düzeyinin azalmasının uygulanan testosteronun MT sentezlemesine bağlı olabileceği, böbrek kadmiyum düzeyinin ise böbrek hücrelerinde kadmiyum testosteron kombinasyonunun hasar oluşturmasıyla kadmiyumun yeterince absorbe olmaması yada hücre içinde tutunamamasının sonucu şekillendiği kanaatindeyiz. Ancak karaciğer ve böbrekteki kadmiyum düzeylerinde mey-

dana gelen bu azalmalar östrojen, progesteron ve östrojen+progesteron ile meydana gelen azalmalardan daha azdır. Bunun nedeninin testosteronun MT sentezini uyarmasının diğerleri kadar olmamasından kaynaklanacağı görüşündeyiz. Bu sonuçlarda Bracken ve Klaassen (3), Shimada ve ark.(25), Waalkes ve ark. (31) ile Parizek ve Zahor (19)'un sonuçlarına uygunluk göstermektedir. Ölüm olaylarının karaciğerde meydana gelen bir hasar sonu şekillendiği ancak serum ALT, AST ve BUN düzeylerindeki değişikliklerin diğer gruptardan daha az olmasından dolayı testosteronun meydana getirdiği karaciğer harabiyetinin diğer steroidler kadar olmadığı ve bununda ölüm oranlarına yansığı kanaatindeyiz.

Sonuç olarak; ağır metallere karşı direnç oluşması ve toksisitenin azaltılmasında önemli rolü bulunan metallothionein adlı proteinin sentezinin artırılmasının aynı metallere karşı toksisiteyi değiştireceği ve akut ve kronik kadmiyum alımında östrojen, progesteron, östrojen+progesteron, prednizolon ve testosteron uygulamasının kadmiyumun doku dağılımı ve toksisitesini değiştirdiği, özellikle bu maddelerin yüksek doz kadmiyum klorürle birlikte uygulandıklarında karaciğer harabiyetini aşırı derecede artırmalarına bağlı olarak değişik oranlarda ölümler meydana getirdiği, kadmiyumla birlikte kullanılan bu steroid preparatlarının karaciğer harabiyetini artırmalarından dolayı akut ve kronik kadmiyum zehirlenmelerinde kullanılmasının uygun olmayacağı, östrojen yokluğunda yada gebelik gibi vücutun progesteron kontrolü altında olduğu durumlarda da kadmiyumun doku dağılımının değişeceği ve toksisitesinin artacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Bhattacharyya, M.H., Sellers, D.D. and Peterson, D.P. Postlactational Changes in Cadmium Retention in Mice Orally Exposed to Cadmium During Pregnancy and Lactation. *Environ.Res.*, 1986; 40, 145-154.
- Blumenthal, S., Lewand, D., Krekoski, S.K. and Petering, D.H. Comparative Effects of Cd²⁺ and Cd-Metallothionein on Cultured Kidney Tubule Cells. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1996; 136, 220-228.
- Bracken, W.M. and Klaassen, C.D. Induction of Metallothionein by Steroids in Primary Hepatocyte Cultures. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1987; 87, 381-388.
- Chan, H.M. and Cherian, M.G. Mobilization of Hepatic Cadmium in Pregnant Rats. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1993; 120, 308-314.
- Cherian, M.G. and Goyer, R.A. Metallothioneins and Their Role in the Metabolism and Toxicity of Metals. *Life Sci.*, 1978; 23, 1-10.
- Dudley, R.E., Gammal, L.M. and Klaassen, C.D. Cadmium-Induced Hepatic and Renal Injury in Chronically Exposed Rats: Likely Role of Cadmium-Metallothionein in Nephrotoxicity. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1985; 77, 414-426.
- Gun, S.A., Gould, T.C. and Anderson, W.A.D. Protective Effect of Estrogen Against Cadmium-Induced Vacular Damage to the Testis Caused by Cadmium. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 1965; 119, 901-905.
- Gun, S.A., Gould, T.C. and Anderson, W.A.D. Protective Effect of Thiol Compounds Against Cadmium-Induced Vacular Damage to Testes. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 1966; 122, 1036-1039.

9. Katsuta,O., Hyratsuka, H., Matsumoto J., et al. Ovariectomy Enhances Cadmium-Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1993; 119, 267-274.
10. Klaassen, C.D. Waalkes, M.P. and Cantilena, L.R. Alteration of Tissue Disposition of Cadmium by Chelating Agents. *Environ.Health. Perspect.*, 1984; 54, 233-242.
11. Laskey, J.W. and Phelps, P.V. Effect of Cadmium and Other Metal Cations on In Vitro Leydig Cell Testosterone Production. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1991; 108, 296-306.
12. Liu, J. Liu Y. and Klaassen, C.D. Nephrotoxicity of CdCl₂ and Cd-MT in Cultured Rat Kidney Proximal Tubules and LLC-PK₁ Cells. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1994; 128, 264-270.
13. Liu, J. Liu Y., Michalska, A.E., Andy Choo, K.H. and Klaassen, C.D. Distribution and Retention of Cadmium in Metallathionein I and II Null Mice. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1996; 136, 260-368.
14. Min, K.S., Kobayashi, K., Ohta, N., et.al. Tissue Distribution of Cadmium and Nephropathy After Administration of Cadmium in Several Chemical Forms. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1986; 86-262-270.
15. Min, K.S., Onosaka, S. and Tanaka, K. Role of Intestinal Metallothionein in Absorption and Distribution of Orally Administered Cadmium. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1991; 109, 7-16.
16. Min, K.S., Onosaka, S. and Tanaka, K. Renal Accumulation of Cadmium and Nephropathy Following Long-term Administration of Cadmium-Metallothionein. *Toxicol.Appl.Pharm.*, 1996; 141, 102-109.
17. Nishiyama, S., Onosaka, S., Taguchi, T., et al. Stimulation of Cadmium Uptake by Estradiol in the Kidney of Male Rats Treated with Cadmium. *Biochem.Pharmacol.*, 1988; 37(1b), 3091-3096.
18. Paky, K., Varga, B. and Lazar, P. Cadmium Interferes with Steroid Biosynthesis in Rat Granulosa and Luteal Cells In Vitro. *Biometals*, 1992; 5 (4), 245-250
19. Parizek, J. Vascular Changes at Sites of Oestrogen Biosynthesis Produced by Parenteral Injection of Cadmium Salts: The Destruction of Placenta by Cadmium Salts. *J.Reprod.Fertil.*, 1964; 7, 263-265.
20. Parizek, J. and Zahor, Z. Effect of Cadmium Salts on Testicular Tissue. *Nature*, 1956; 177, 1036-1037.
21. Saksena, S.K. and Lau, I.F. Effects of Cadmium Chloride on Testicular Steroidogenesis and Fertility of Male Rats. *Endokronologie*, 1979; 74, 6-12
22. Sendelbach, L.E. and Klaassen, C.D. Kidney Synthesizes Less Metallothionein than Liver in Response to Cadmium Chloride and Cadmium-Metallothionein. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1988; 92, 95-102.
23. Servi, K. ve Kara, H. Tavşanlarda Kadmiyumun Doku Dağılımı Üzerine Bazı Şelat Yapıçı Maddelerin Etkisi. *F.Ü. Sağlık Bil. Derg.*, 1996; 10 (2), 325-333.
24. Shimada, H., Bare, R.M., Hochadel, J.F. and Waalkes, M.P. Progesteron Pretreatment Enhances Cellular Sensitivity to Cadmium Despite A Marked Activation of the Metallothionein Gene. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1997; 142, 178-185.
25. Shimada, H., Bare, R.M., Hochadel, J.F. and Waalkes, M.P. Testosteron Pretreatment Mitigates Cadmium Toxicity in Male C57 Mice but C3H Mice. *Toxicology*, 1997; 116 (1-3), 183-191.
26. Shiraishi, N. Barter, R.A., Uno, H. and Waalkes, M.P. Effect of Progesterone Pretreatment on Cadmium Toxicity in the Male Fisher (F344/NCR) Rat. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1993; 118, 113-118.
27. Singhal, R.K. Anderson, M.E. and Meister, A. Glutathione A First Line of Defence Against Cadmium Toxicity. *J. FASEB.*, 1987; 1, 220-223.
28. Suzuki, C.A.M. and Cherian, M.G. Renal Gluthation Depletion and Nephrotoxicity of Cadmium-MT in Rats. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1989; 98, 544-552.
29. Suzuki, K.T., Takahashi, K., Tamagawa, H. and Shimojo, K. Pregnancy Associated Changes in Renal Metallothionein Concentration on Plasma Distrubutions of Metals. *Biochem. Pharmacol.*, 1989; 38, 4053-4060.
30. Waalkes, M.P., Perantoni, A., Bhave, M.R. and Rehm, S. Strain Dependence in Mice of Resistance and Susceptibility to the Testicular Effects of Cadmium: Assessment of the Rol of Testicular Cadmium-Binding Proteins. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1988; 93, 47-61.
31. Waalkes, M.P., Rehm, S. and Devor, D.E. The Effects of Continuous Testosterone Exposure on Spontaneous and Cadmium-Induced Tumors in the Male Fisher (F344/NCr) Rat: Loss of Testicular Response. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1997; 142, 40-46
32. Wang, C. and Bhattacharyya, M.H. Effect of Cadmium on Bone Calcium and ⁴⁵Ca in Nonpregnant Mice on a Calcium-Deficient Diet: Evidence of Direct Effect on

- Cadmium on Bone. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 1993; 120, 228-239.
33. Wang, C., Brown, S. and Bhattacharyya, M.H. Effect of Cadmium on Bone Calcium and ^{45}Ca in Mouse Dams on a Calcium-Deficient Diet: Evidence of Itai-Itai-Like Syndrome. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1994; 127, 320-330.
34. Wolkowosky-Tyl, R. and Preston, S.F. The Interaction of Cadmium of Cadmium-Binding Proteins (Cd-bp) and Progesteron in Cadmium Induced Tissue and Embryo Toxicity. *Teratology*, 1979; 20, 341-352.
35. Wong, K.L., Cachia, R. And Klaasen, C.D. Comparison of Toxicity and Tissue Distribution of Cadmium in Newborn and Adult Rats After Repeated Administration. *Toxicol.Appl.Pharmacol.*, 1980; 56, 317-325.