

ELŻBIETA BONDA, TADEUSZ WŁOSTOWSKI, ALICJA KRASOWSKA

*Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku  
Świerkowa 20B, 15-950 Białystok  
e-mail: twlostow@uwb.edu.pl*

## METABOLIZM I TOKSYCZNOŚĆ KADMU U CZŁOWIEKA I ZWIERZĄT

### WSTĘP

Kadm (Cd(II)) jest metalem ciężkim, którego ilość w środowisku ciągle wzrasta (SATARUG i współaut. 2003). Ze względu na silne właściwości toksyczne został on umieszczony na liście substancji niebezpiecznych dla środowiska i organizmów żywych, w tym człowieka. Metal ten stanowi szczególne ryzyko, ponieważ jest bardzo łatwo wchłaniany i akumulowany w tkankach zarówno roślin, jak i zwierząt (CHMIELNICKA i CHERIAN 1986). Dodatkowo, ze względu na długi okres półtrwania, 10-30 lat u ludzi, ulega on sukcesywnie nagromadzeniu w tkankach, zwiększając z czasem ryzyko wystąpienia objawów toksycznych nawet po ustaniu bądź zmniejszeniu bezpośredniej ekspozycji na jego działanie. W organizmach nie narażonych bezpośrednio na zanieczyszczenia kadmem jego zawartość jest niska, ale wykazuje stałą tendencję wzrostową wraz z wiekiem. Na przykład, w korze nerkowej przeciętnego noworodka w ogóle nie stwierdza się obecności kadmu, podczas gdy u dorosłego człowieka jego poziom sięga już 40-50 µg/g; największe stężenia tego pierwiastka obserwuje się u ludzi między 40-60 rokiem życia (BEM i współaut. 1993, SATARUG i współaut. 2003) i właśnie w tej grupie zazwyczaj opisuje się toksyczne efekty Cd(II). Wśród najczęściej stwierdzanych skutków działania kadmu, zarówno u ludzi jak i zwierząt, wymienia się nieodwracalne uszkodzenia nerek, wątroby, płuc, anemię i osteoporozę (JARUP i współaut. 1998). Szczególnie wyrazistym przykładem toksycznego działa-

nia kadmu jest choroba Itai-Itai, opisana u mieszkańców doliny rzeki Jinzu w Japonii, przez długi czas jedzących ryż zanieczyszczony kadmem. Choroba ta charakteryzuje się silnymi bólami i zwiększoną łamliwością kości, będącą wtórnym efektem postępującej osteoporozy. Zaburzenia mineralizacji kości są natomiast wynikiem zwiększonego wydalania wapnia z moczem oraz zaburzeniami przemiany witaminy D, spowodowanymi uszkodzeniem nerek przez ten metal (BRZÓSKA i MONIUSZKO-JAKONIUK 1998, NOMIYAMA i NOMIYAMA 1998). Kadm został również zaliczony do kategorii A ludzkich karcynogenów (IARC 1993), wśród takich czynników jak aflatoksyny, azbest, benzen, wirus *Hepatitis B* czy wyroby tytoniowe. Ekspozycja na działanie Cd(II) może bowiem prowadzić do nowotworów płuc, prostaty, trzustki i nerek (WAALKES 2003, WAISBERG i współaut. 2003). Narażenie organizmu na toksyczne działanie Cd(II) wiąże się również z podwyższeniem ryzyka śmiertelności. Efekt taki zaobserwowano na terenach zanieczyszczonych tym metalem zarówno wśród ludzi (SATARUG i współaut. 2003), jak i w populacjach ptaków oraz małych ssaków, u których stwierdzono obniżenie przeżywalności zwłaszcza wśród osobników młodocianych (DMOWSKI i współaut. 1995, LARISON i współaut. 2000). Celem niniejszej pracy jest przedstawienie dotychczasowych osiągnięć w poznaniu mechanizmów wchłaniania i akumulacji Cd(II) oraz toksycznego oddziaływania tego pierwiastka na komórki ludzi i zwierząt.

## KADM W ŚRODOWISKU

Kadm jest metalem naturalnie występującym w skorupie ziemskiej, gdzie przeciętna jego zawartość wynosi około 0.1 mg/kg i towarzyszy głównie złożom cynku i ołowiu. Zwiększoną koncentrację kadmu obserwuje się też w osadach fosforanowych, które zawierają nawet 15 mg Cd/kg (SATARUG i współaut. 2003). Do środowiska kadm dostaje się na skutek naturalnych procesów, takich jak erozja, aktywność wulkaniczna i pożary lasów. W ten sposób do wód oceanicznych trafia rocznie 15000 ton, a do atmosfery 100–500 ton pierwiastka. Jednak wzrastająca wciąż ilość Cd(II) w środowisku naturalnym jest przede wszystkim wynikiem przemysłowej działalności człowieka związanej z hutnictwem metali, produkcją baterii Cd-Ni, barwników i stabilizatorów tworzyw sztucznych, procesami galwanizacji, składowaniem odpadów komunalnych oraz nawożeniem gleb, zwłaszcza nawozami fosforanowymi, co powoduje emisję 4000–13000 ton kadmu rocznie (WITTMAN i HU 2002). Mimo prób ograniczenia emisji kadmu szacuje się, że jego stężenie w glebach rośnie około 0,2% rocznie (JIN i współaut. 2002).

W roztworze glebowym kadm występuje zwykle w postaci łatwo rozpuszczalnych soli oraz kompleksów ze związkami organicznymi, jest więc łatwo wchłaniany przez rośliny

i akumulowany w ich tkankach, w ten sposób włączając się do łańcuchów troficznych (CHMIELNICKA i CHERIAN 1986). Tempo wchłaniania Cd(II) przez rośliny zależy od wielu czynników takich jak rodzaj kompleksu w jakim obecny jest w glebie czy odczyn podłoża. Na przykład, obniżenie pH gleby czyni zawarty w niej Cd(II) bardziej mobilnym, powodując wzrost koncentracji pierwiastka w roślinach (JIN i współaut. 2002). Wielkość akumulacji zależy również od gatunku rośliny. Stwierdzono na przykład, że wierzby akumulują więcej kadmu (nawet 10,8 µg Cd/g) niż inne rośliny rosnące na tym samym terenie (LARISON i współaut. 2000). Wśród takich bioakumulatorów kadmu wymienia się również tytoń (zawierający ok. 1 µg Cd/g), nasiona roślin oleistych: pestki słonecznika, orzeszki ziemne, siemię lniane, a także niektóre warzywa liściaste takie jak sałata i szpinak oraz dziką pieczarkę (SATARUG i współaut. 2000). Również wśród zwierząt niektóre gatunki wykazują szczególną zdolność do akumulacji Cd(II). Wysokie stężenia metalu stwierdza się zwłaszcza w tkankach mięczaków i skorupiaków, a wśród ssaków w wątrobie i nerkach zwierząt hodowlanych oraz dzikich (BEIGL-BÖCK i współaut. 2002, SATARUG i współaut. 2003).

## WCHŁANIANIE I AKUMULACJA KADMU

Do organizmu zwierząt i człowieka kadm dostaje się głównie dwiema drogami: poprzez inhalację oraz drogą pokarmową. Najefektywniej kadm jest absorbowany przez drogi oddechowe. Szacuje się, że około 10% dawki kadmu w postaci CdO akumuluje się bezpośrednio w płucach, a nawet 40% przechodzi do krwiobiegu podczas ekspozycji na kadm zawarty we wdychanym powietrzu (SATARUG i MOORE 2004). Na przykład, wypalenie 1 papierosa, zawierającego średnio 1–2 µg Cd(II), dostarcza organizmowi około 0,1–0,15 µg tego pierwiastka (WITTMAN i HU 2002). Dlatego też u osób palących stwierdza się 45-krotnie wyższy poziom Cd(II) we krwi oraz 2–3-krotnie więcej tego metalu w nerkach (SATARUG i MOORE 2004).

Absorpcja Cd(II) z przewodu pokarmowego jest mniej wydajna i u różnych gatunków sięga tylko 3–8%, jednak biorąc pod uwagę

bioakumulacyjne właściwości pierwiastka w tkankach, to właśnie pokarm jest głównym źródłem kadmu dla zwierząt oraz ludzi nie narażonych zawodowo na toksyczne działanie tego metalu (SATARUG i współaut. 2003). Generalnie głównymi organami, narażonymi na toksyczność Cd(II) są nerki i wątroba, w których akumuluje się około 70% pierwiastka, dostarczonego do organizmu, znacznie mniejsze ilości stwierdza się również w jelicie, jądrach, gruczole krokowym i kościach. Wchłanianie i akumulacja kadmu zależą od wielu czynników takich jak wielkość dawki i czas narażenia na działanie Cd(II), forma chemiczna pierwiastka, a także indywidualne cechy organizmu, a więc wiek, płeć czy ogólny stan fizjologiczny. Przy jednorazowej wysokiej ekspozycji na działanie kadmu, akumuluje się on głównie w wątrobie, natomiast przy długotrwałym narażeniu na niskie stę-

żenia kadmu w pokarmie, dochodzi przede wszystkim do dysfunkcji nerek, spowodowanej zwiększoną kumulacją pierwiastka w tym narządzie (LIU i współaut. 1998, JIN i współaut. 2002). Na sposób dystrybucji kadmu w organizmie wpływa również chemiczna forma pierwiastka. Generalnie akumulacja kadmu w wątrobie, nerkach i jelicie jest większa po ekspozycji na działanie pierwiastka w postaci nieorganicznej soli ( $\text{CdCl}_2$ ) niż w kompleksie np. z metalotioneiną ( $\text{CdMT}$ ). Wykazano też, że kadm podany jako  $\text{CdCl}_2$  akumuluje się głównie w wątrobie, natomiast podanie  $\text{CdMT}$  powoduje gromadzenie pierwiastka przede wszystkim w nerkach (GROTEN i współaut. 1992). Wydajność absorpcji  $\text{Cd(II)}$  w dużym stopniu zależy natomiast od stanu fizjologicznego organizmu, zwłaszcza stanu zaopatrzenia w inne pierwiastki, takie jak żelazo czy cynk. Deficyt tych pierwiastków może bowiem powodować zwiększenie wchłaniania i akumulacji  $\text{Cd(II)}$  (REEVES i CHANEY 2001). Również skład diety może wpływać na absorpcję  $\text{Cd(II)}$ ; na przykład pokarm bogaty w białko a ubogi w błonnik podwyższa wydajność wchłaniania  $\text{Cd(II)}$ . Dodatkowo wielkość absorpcji i akumulacji  $\text{Cd(II)}$  jest różnicowana przez płeć. BLAZKA i SHAIKH (1991) wykazali, że samice szczurów, w porównaniu z samcami, akumuluje więcej kadmu w wątrobie i nerkach. Podobny efekt zaobserwowano również u ludzi (SATARUG i współaut. 2003). Inne badania, z kolei, wskazują na wiek jako główne źródło różnicowanej wydajności wchłaniania  $\text{Cd(II)}$  (HORIGUCHI i współaut. 2004). Generalnie młode osobniki charakteryzują się większą zdolnością absorpcji kadmu w porównaniu z dorosłymi.

Absorpcja kadmu z przewodu pokarmowego zachodzi dwuetapowo. W pierwszym etapie następuje szybkie wchłanianie i akumulacja pierwiastka w enterocytach, następnie rozpoczyna się powolny transport do krwiobiegu (EISENHANS i współaut. 1997). Kadm, jako pierwiastek niezbędny fizjologicznie, nie posiada specjalnych przenośników ułatwiających wchłanianie i dystrybucję w organizmie, dlatego też wykorzystuje on przenośniki specyficzne dla innych pierwiastków i związków. Większość  $\text{Cd(II)}$  wchłaniana jest w dwunastnicy (ANDERSEN i współaut. 1994), a wydajność absorpcji w dużej mierze zależy od statusu  $\text{Fe(II)}$  w organizmie. W wielu badaniach stwierdzono, że deficyt żelaza zwiększa wydajność wchłaniania kadmu w jelicie (PARK i współaut. 2002, RYU i współ-

aut. 2004). Absorpcja żelaza jest ściśle regulowana przez stężenie pierwiastka w organizmie i w warunkach deficytu dochodzi do zwiększonej ekspresji białek transportujących  $\text{Fe(II)}$  w jelicie. W enterocytach zidentyfikowano dwa przenośniki związane z transportem  $\text{Fe(II)}$ : umiejscowiony w błonie apikalnej enterocytów niespecyficzny przenośnik jonów dwuwartościowych DMT1 (ang. divalent metal transporter 1), a także położony w błonie boczno-przypodstawnej przenośnik MTP 1 (ang. metal transporter protein 1). W warunkach deficytu żelaza zwiększa się ekspresja zarówno DMT1, jak i MTP1. Takiej zwiększonej ekspresji obu transporterów towarzyszy też wzrost akumulacji kadmu w tkankach (PARK i współaut. 2002, RYU i współaut. 2004), natomiast ekspozycja komórek jelita na zwiększoną ilość  $\text{Fe(II)}$  obniża ekspresję DMT1 i hamuje wchłanianie  $\text{Cd(II)}$  (TALLKVIST i współaut. 2001). Za takim mechanizmem wchłaniania kadmu, związanym z transportem żelaza, przemawia również fakt, że zablokowanie DMT1 w warunkach *in vitro* powoduje obniżenie stężenia zarówno  $\text{Fe(II)}$ , jak i  $\text{Cd(II)}$  w komórkach poddanych ekspozycji na te metale (BANNON i współaut. 2003).

Wchłanianie kadmu ze światła jelita może również zachodzić poprzez system normalnie zaangażowany w transport cynku, inny niż DMT1. Takimi przenośnikami mogą być, obecny w apikalnej błonie enterocytów transporter cynku hZTL1, regulowany przez poziom pierwiastka (CRAGG i współaut. 2001) oraz transporter ZNT1 w błonie boczno-przypodstawnej (PALMITER i FINDLEY 1995). Badania *in vitro* wskazują, że również kanały wapniowe mogą być miejscem przechodzenia  $\text{Cd(II)}$  przez błony komórek, gdyż zablokowanie tych kanałów zmniejsza wchłanianie  $\text{Cd(II)}$  (SOUZA i współaut. 1997). Z kolei w badaniach *in vivo* stwierdzono, że niedobór wapnia zwiększa absorpcję kadmu z przewodu pokarmowego i jego akumulację w tkankach (BRZÓSKA i MONIUSZKO-JAKONIUK 1998). Tak więc kadm, na zasadzie podobieństwa chemicznego, tzw. „mimikry jonowej” (BRIDGES i ZALUPS 2005) wchłaniany jest przez przenośniki specyficzne dla innych, niezbędnych fizjologicznie, jonów dwuwartościowych, takich jak  $\text{Fe(II)}$ ,  $\text{Zn(II)}$  i  $\text{Ca(II)}$ .

Ze względu na wysokie powinowactwo do grup tiolowych kadm może również przechodzić przez błony enterocytów jako kompleks ze związkami zawierającymi te grupy, takimi jak cysteina czy glutation, wykorzystu-

jąc w ten sposób przenośniki zaangażowane w normalny proces wchłaniania aminokwasów, peptydów i innych związków niezbędnych fizjologicznie (ZALUPS i AHMAD 2003). Taki mechanizm absorpcji metali ciężkich został potwierdzony eksperymentalnie w przypadku rtęci. Stwierdzono, że kompleks Hg-cysteina jest transportowany przez błonę komórek kanalików proksymalnych nerki właśnie przez transportery aminokwasów, a ponieważ niektóre z nich obecne są również w jelicie, możliwe, że podobny mechanizm może funkcjonować w przypadku wchłaniania kompleksów Cd-cysteina i Cd-glutation z przewodu pokarmowego (ZALUPS i AHMAD 2003). Istnieje również hipoteza, według której kadm mógłby być wchłaniany poprzez endo- i egzocytozę białek zawierających ten pierwiastek, zwłaszcza jeśli związany jest z metalotioneiną lub albuminą. Dane eksperymentalne rzeczywiście potwierdzają, że jeśli nabłonek jelita jest bezpośrednio ekspozycyjny na CdMT, część kompleksu bezpośrednio przechodzi przez nabłonek i wchodzi do naczyń. Niewykluczone też, że przynajmniej część wchłanianego kadmu jest wynikiem zaburzenia integralności nabłonka jelita, spowodowanej uszkodzeniem przez pierwiastek połączeń międzykomórkowych (PROZIALECK i współaut. 2003), dzięki czemu metal mógłby przechodzić przez przestrzenie międzykomórkowe jelita.

Po wchłonięciu z przewodu pokarmowego, większość kadmu, przez układ wrotny transportowana jest do wątroby. Około 50–60% kadmu we krwi znajduje się we frakcji komórkowej, głównie erytrocytach. Pozostała część transportowana jest w kompleksach z

białkami, zwłaszcza albuminami oraz z glutationem i cysteiną (ZALUPS i AHMAD 2003). Do hepatocytów Cd(II) przenika głównie przez transporter dla żelaza DMT1 oraz kanały wapniowe. W wątrobie kadm indukuje syntezę metalotioneiny (MT), która wiąże jony metalu w kompleks CdMT. Zdolność komórek wątroby do syntezy MT chroni je przed bezpośrednią toksycznością metalu, jednak sprzyja również kumulacji pierwiastka w tym narządzie. W sytuacji, kiedy dochodzi do uszkodzenia hepatocytów, np. gdy wydajność syntezy MT staje się niewystarczająca do wiązania dostarczanego sukcesywnie kadmu lub też pod wpływem zupełnie innych czynników, następuje uwolnienie kompleksu CdMT do krwi. Obecny we krwi kompleks kadmu z niskocząsteczkową metalotioneiną (CdMT) jest łatwo filtrowany w kłębuszkach nerkowych, a następnie resorbowany w kanalikach proksymalnych nerki. Komórki kanalików proksymalnych są głównym celem toksyczności kadmu w nerce (NOMIYAMA i NOMIYAMA 1998, KLAASSEN i współaut. 1999). Degradacja lizosomalna CdMT powoduje uwolnienie wysoce toksycznych jonów metalu, które powodują uszkodzenia komórek. W rezultacie dochodzi do degeneracji komórek kanalików i zaburzenia procesów resorpcji.

Organizmy zwierząt i ludzi posiadają słabą zdolność wydalania kadmu, dlatego też ogólną tendencją jest sukcesywna kumulacja metalu w tkankach. Część kadmu może być jednak usuwana wraz z moczem lub żółcią jako koniugaty ze związkami zawierającymi grupy tiolowe (cysteina, glutation, metalotioneina) (ZALUPS i AHMAD 2003).

#### INDUKCJA STRESU OKSYDACYJNEGO PRZEZ KADM

Indukcja stresu oksydacyjnego i peroksydacja lipidów wchodzących w skład błon komórkowych jest uważana za podstawowy mechanizm toksycznego działania Cd(II) na komórki wielu tkanek i narządów (SHAIKH i współaut. 1999). Pod wpływem kadmu zwiększa się stężenie reaktywnych form tlenu (RFT) takich jak: rodnik wodorotlenowy ( $\text{OH}^\bullet$ ), rodnik ponadtlenkowy ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) oraz nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) (STOHS i współaut. 2001), a cytotoxycznosc pierwiastka jest ograniczana przez szereg antyoksydantów takich jak katalaza, dysmutaza ponadtlenkowa czy mannitol – zmiatacz rodników hydroksylowych (POURAHMAD i O'BRIEN

2000). Generalnie stres oksydacyjny jest konsekwencją indukcji reaktywnych form tlenu w reakcji Fentona z udziałem metali przejściowych (Fe(II) i Cu(I)). Ponieważ jednak kadm nie jest bezpośrednio zaangażowany w reakcji Fentona, indukcja RFT w tym przypadku zachodzi w inny sposób. Zwiększenie ilości RFT pod wpływem Cd(II) może być efektem uwalniania metali przejściowych z miejsc ich naturalnego występowania w komórce. Stwierdzono na przykład, że kadm może wiązać się z ferrytyną i ceruloplazminą powodując wyparcie jonów żelaza i miedzi (WAISBERG i współaut. 2003) lub też uszkadzając mitochondria, prowadzi do

uwolnienia Fe(II) z enzymów oddechowych (CASALINO i współaut. 2000).

Inną możliwością jest modyfikacja przez kadm naturalnych procesów, w których tworzone są reaktywne formy tlenu. Takim naturalnym źródłem RFT w komórce są mitochondria, gdzie wolne rodniki tlenowe powstają na skutek niepełnej redukcji tlenu cząsteczkowego podczas fosforylacji oksydacyjnej (SIRAKI i współaut. 2002). Rzeczywiście stwierdzono, że źródłem zwiększonej ilości RFT w hepatocytach pod wpływem Cd(II) są właśnie mitochondria, ponieważ inhibitory fosforylacji ograniczają indukowany przez Cd(II) wzrost stężenia RFT (POURAHMAD i współaut. 2003). Indukcja RFT pod wpływem kadmu związana jest z zaburzeniem przepływu elektronów w łańcuchu oddechowym, spowodowanym inhibicją kompleksów enzymatycznych, zwłaszcza kompleksu III – reduktazy cytochromowej, odpowiedzialnej za dwuetapowy proces przeniesienia elektronów z ubichinonu na cytochrom c (WANG i współaut. 2004). Możliwy mechanizm indukcji RFT tą drogą zakłada, że jony kadmu wiążą się do miejsca utleniania semiubichinolu ( $Q^{\cdot-}$ ) w kompleksie III, powodując zmiany konformacyjne i częściową inhibicję przepływu elektronów od  $Q^{\cdot-}$  do cytochromu  $b_{566}$  i  $b_{562}$ . To powoduje akumulację semiubichinolu  $Q^{\cdot-}$  w kompleksie III. Cząsteczki  $Q^{\cdot-}$  odznaczają się wysoką niestabilnością i skłonnością do przenoszenia elektronów na cząsteczki tlenu, powodując ich przejście do form nadtlenowych (WANG i współaut. 2004).

Wewnątrzkomórkowe stężenie RFT może wzrastać nie tylko w wyniku zwiększenia produkcji, ale również jako konsekwencja zaburzenia ich eliminacji, spowodowanej inhibicją systemu antyoksydacyjnego komórki. Ekspozycja na działanie Cd(II) obniża aktywność większości enzymów antyoksydacyjnych takich jak katalaza (CAT), odpowiedzialna za przekształcenie nadtlenku wodoru do wody i tlenu cząsteczkowego, oraz dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalizująca przekształcenie anionorodnika ponadtlenkowego. Inhibicyj-

ny efekt kadmu spowodowany jest tu podstawieniem przez metal jonów Mn(II) (w przypadku MnSOD) lub Zn(II) (w Cu/ZnSOD) (CASALINO i współaut. 2002). Pod wpływem kadmu obserwuje się również zmniejszenie w komórkach zawartości glutationu (GSH), który jest ważnym elementem systemu antyoksydacyjnego (POURAHMAD i O'BRIEN 2000, STOHS i współaut. 2001). Jednocześnie inhibicji ulegają też enzymy zaangażowane w glutationowy szlak redukcji form nadtlenowych w komórce, a więc peroksydaza glutationowa (katalizująca reakcję GSH z  $H_2O_2$ ), reduktaza glutationowa (odtworząca pulę zredukowanego glutationu w komórce), a także dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa (enzym katalizujący powstawanie NADPH – kofaktora reduktazy glutationowej) (TATRAI i współaut. 2001). Tak więc obserwowane zwiększenie ilości RFT w komórkach pod wpływem kadmu może też być rezultatem osłabienia zdolności redukcyjnych komórki w wyniku inhibicji systemu antyoksydacyjnego przez ten metal.

Bez względu na mechanizm, poprzez który kadm prowadzi do wzrostu stężenia reaktywnych form tlenu, konsekwencją tego procesu są zmiany w strukturze i metabolizmie komórek, prowadzące często do ich nieodwracalnego uszkodzenia. Reaktywne formy tlenu łatwo wchodzi w reakcje z wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi, prowadząc do peroksydacji lipidów błon komórkowych. Proces ten rozpoczyna się oderwaniem wodoru od cząsteczki kwasu tłuszczowego. Powstający w ten sposób rodnik alkilowy reagując z tlenem tworzy rodnik nadtlenowy, zdolny do dalszych reakcji utleniania kolejnych kwasów tłuszczowych. Końcowymi produktami utleniania (peroksydacji) lipidów są mono- i dialdehydy np. dialdehyd malonowy (MDA). Efektem peroksydacji lipidów jest zanik integralności błony komórkowej, modyfikacja działania błonowych białek enzymatycznych, naruszenie gradientu jonowego błon i w konsekwencji uszkodzenie komórki (BARTOSZ 2004).

## USZKODZENIE MITOCHONDRIOW I ZABURZENIE PRODUKCJI ATP

Mitochondria są centrum energetycznym komórki, a ich uszkodzenie prowadzi do obniżenia produkcji ATP i w konsekwencji do zahamowania wszelkich procesów energozależnych w komórce. Toksyczne działanie kadmu w dużej mierze jest wynikiem właśnie

uszkodzenia tych organelli. Pod wpływem metalu obserwuje się zahamowanie respiracji, zaburzenie potencjału błonowego i obrzęk mitochondriów (ALNASSER 2000). Pierwszym etapem toksycznego działania Cd(II) na mitochondria jest modyfikacja przepuszczalności

blony mitochondrialnej. Kadm dostaje się do przedziałów mitochondrialnych przez kanały wapniowe, wchodząc w interakcje z grupami tiolowymi uniportera Ca(II) (DORTA i współaut. 2003, LI i współaut. 2003). Następnie wiąże się do grup tiolowych transportera nukleotydów adeninowych (TNA) zlokalizowanego w wewnętrznej błonie mitochondrialnej i będącego strukturalną częścią porów mitochondrialnych. Wywołane w ten sposób zmiany konformacyjne białka powodują wzrost przepuszczalności błony mitochondrialnej i zaburzenie potencjału błonowego. W kolejnym etapie kadm hamuje respirację oddziałując na białka łańcucha oddechowego (WANG i współaut. 2004). Inhibicja przepływu elektronów w łańcuchu oddechowym jest również efektem uwolnienia cytochromu c, spowodowanego otwarciem porów mitochondrialnych pod wpływem Cd(II) (LI

i współaut. 2003), a także podstawieniem przez kadm jonów Fe(II) w centrach aktywnych enzymów oddechowych (CASALINO i współaut. 2000). Takie zwiększenie poziomu wolnych jonów Fe(II), będących bezpośrednim induktorem RFT, prowadzi do peroksydacji lipidów błon mitochondrialnych i w rezultacie nawet do strukturalnych uszkodzeń tych organeli.

Inhibicja respiracji przez Cd(II) może być też spowodowana ograniczeniem dostępności jonów Fe(II), na przykład w wyniku zmniejszenia wchłaniania Fe(II) z przewodu pokarmowego. Taki efekt kadmu zaobserwowano na przykład w wątrobie i nerkach nornicy rudej, gdzie powstałe uszkodzenia narządów były właśnie rezultatem obniżenia poziomu Fe i Fe-zależnych procesów oksydacyjno-redukcyjnych (WŁOSTOWSKI i współaut. 2000).

#### WPLYW KADMU NA SYSTEM INFORMACYJNY KOMÓRKI

Możliwość odbierania i przetwarzania przez komórkę sygnałów zewnętrznych jest podstawowym warunkiem jej prawidłowego funkcjonowania w tkankach i narządach. Kadm może oddziaływać na komórkowe szlaki sygnalizacyjne i to właściwie na każdym z poziomów transdukcji sygnału, a więc na poziomie receptorów, wtórnych przekaźników, enzymów oraz czynników transkrypcyjnych. Pierwszym etapem, na którym kadm może wpływać na sygnalizację komórkową są tak zwane receptory sieroce, zidentyfikowane w błonie większości typów komórek, aktywacja których zapoczątkowuje fosfoinozitolowy szlak sygnalizacyjny (SMITH i współaut. 1994). Przyłączenie liganda [w tym przypadku Cd(II)] do receptora powoduje, poprzez białko G, aktywację fosfolipazy C, która hydrolizuje obecny w błonie bifosforan fosfatydyloinozytolu (PIP<sub>2</sub>) do dwóch wtórnych przekaźników: trifosfoinozytolu (IP<sub>3</sub>) i diacyloglicerolu (DAG). W rezultacie dochodzi do aktywacji kinazy białkowej C przez DAG; z kolei IP<sub>3</sub>, wiążąc się z kanałami wapniowymi w retikulum endoplazmatycznym (ER), uwalnia zmagazynowane jony wapnia. Wysoki poziom jonów wapnia może być dodatkowo efektem inhibicji przez kadm Ca(II)-ATP-azy, co zapobiega ponownemu przenoszeniu jonów wapnia do ER, utrzymując jego wysokie stężenie w cytozolu (HECHTENBERG i BEYERSMANN 1991). To z kolei może prowadzić do aktywacji kinaz zależnych od kalmoduliny.

Kadm może modyfikować również pozostałe szlaki sygnalizacyjne poprzez wpływ na inne wtórne przekaźniki. Wykazano na przykład, że pod wpływem Cd(II) wzrasta w komórkach poziom cGMP na skutek inhibicji przez metal fosfodiesterazy (PDE), enzymu hydrolizującego cGMP (WÄTJEN i współaut. 2001). To z kolei może podwyższać ekspresję np. wczesnych genów, a także prowadzić do aktywacji enzymów zależnych od cGMP. Inhibicja PDE przez kadm może również przyczynić się do zwiększenia poziomu komórkowego cAMP, który również jest substratem dla tego enzymu (WÄTJEN i współaut. 2001). W rezultacie zmniejszenie hydrolizy cAMP powoduje wzmocnienie szlaku związanego z aktywacją kinazy białkowej A (PKA). Wzrost poziomu cAMP może być też rezultatem aktywacji przez kadm cykazy adenylanowej zależnej od Ca(II)-kalmoduliny (SMITH i współaut. 1994).

Zaburzenie sygnalizacji komórkowej przez Cd(II) może się również odbywać na poziomie transkrypcji i translacji. Generalnie kadm wpływa na ekspresję genów kilkoma drogami. Wiadomo, że pod wpływem Cd(II) wzrasta wewnątrzkomórkowy poziom jonów wapnia. Z kolei jony wapnia mogą bezpośrednio indukować ekspresję genów poprzez aktywację białka CREB (ang. cAMP responsive element binding protein) wchodzącego w interakcje ze specyficznymi miejscami w regionie promotorowym genów (HARDINGHAM

i współaut. 1997) lub też aktywować kinazy białkowe odpowiedzialne za fosforylację białek, w tym licznych czynników transkrypcyjnych. Wykazano na przykład, że kadm zmienia aktywność takich czynników jak Ap-1, MTF-1, NFκB czy HIF-1α (ANDREWS 2000, CHUN i współaut. 2000, THEVENOD i współaut. 2000). Modyfikacja ta może zachodzić właśnie drogą zmian fosforylacji tych czynników dzięki aktywacji przez Cd(II) kinazy białkowej. Taki mechanizm potwierdzono w przypadku czynnika MTF-1 (LAROCHELLE i współaut. 2001), którego aktywacja przez jony metalu jest właśnie wynikiem fosforylacji. Dodatkowo stwierdzono, że pod wpływem Cd(II) wzrasta gwałtownie translokacja MTF-1 z cytozolu do jądra, zwiększając tym samym aktywację kluczowych genów (SMIRNOVA i współaut. 2000). Zmiana ekspresji genów może być również wtórnym efektem zwiększenia ilości reaktywnych form tlenu pod wpływem kadmu. JOSEPH i współaut. (2001) wykazali na przykład, że indukcja pod

wpływem kadmu wspomnianego już czynnika AP-1, będącego produktem protoonkogenów *c-fos* i *c-jun*, wiąże się między innymi z działaniem RFT. Kadm może też zaburzać ekspresję genów na etapie translacji. Wykazano, że metal ten zwiększa w komórkach ilość czynników kontrolujących proces translacji, takich jak TIF3 (czynnik inicjacji translacji) czy TEF-1δ (czynnik elongacji translacji) (JOSEPH i współaut. 2004). Ostatnio zauważono również, że kadm może aktywować określone geny poprzez inhibicję metylacji DNA. Generalnie poziom metylacji genów reguluje ich ekspresję, a hypometylacja powoduje ich nadekspresję i jeśli dotyczy genów związanych ze wzrostem i podziałami komórek, może prowadzić do transformacji nowotworowej. Takie zmniejszenie metylacji DNA zaobserwowano w komórkach wątroby szczurów pod wpływem Cd(II), czemu rzeczywiście towarzyszyła zwiększona proliferacja komórek (TAKIGUCHI i współaut. 2003).

#### INDUKCJA KARCINOGENEZY PRZEZ KADM

Badania epidemiologiczne wskazują, że istnieje związek między ekspozycją na działanie kadmu a występowaniem nowotworów u ludzi. Taką zależność stwierdzono w przypadku nowotworów płuc, prostaty, trzustki oraz nerek (WAALKES 2003, ILYASOVA i SCHWARTZ 2005). Karcynogenne właściwości kadmu potwierdzają również liczne badania laboratoryjne. U szczurów poddanych ekspozycji na kadm przez inhalację rozwija się nowotwór płuc, natomiast podskórna iniekcja chlorku kadmu wywołuje nowotwory prostaty, jąder oraz lokalne nowotwory skóry. Również ekspozycja na Cd(II) drogą pokarmową prowadzi do rozwoju nowotworów prostaty, nerek oraz jąder (WAALKES 2003).

W kulturach *in vitro* obserwuje się uszkodzenia DNA pod wpływem kadmu, będące wynikiem pośredniego działania pierwiastka, gdyż metal ten wykazuje słabą bezpośrednią aktywność genotoksyczną (WAALKES 2003). Karcynogenne właściwości kadmu wynikają najprawdopodobniej z jego zdolności do inhibicji naprawy już powstałych uszkodzeń DNA np. pod wpływem stresu oksydacyjnego, indukowanego przez Cd(II). W prawidłowo funkcjonującej komórce miejsca uszkodzenia DNA są rozpoznawane i naprawiane przez system enzymatycznych białek naprawczych.

Pod wpływem kadmu spada wydajność naprawy DNA w następstwie inhibicji enzymów biorących udział w tym procesie, takich jak 8-okso-DNA-glukozydazy i endonukleazy III (POTTS i współaut. 2001). Oprócz inhibicji enzymów kadm może również modyfikować sam proces naprawczy, hamując przyłączanie białek do miejsc uszkodzeń DNA. Taki efekt zaobserwowano w przypadku białka XPA (ASMUSS i współaut. 2000). Białko to, podobnie jak wiele czynników transkrypcyjnych, łączy się z DNA dzięki obecności motywu palców cynkowych. Inhibycyjne działanie Cd(II) polega tu na możliwości podstawienia cynku przez kadm (KOPERA i współaut. 2004), co utrudnia przyłączenie zmodyfikowanego białka do uszkodzonego DNA i w konsekwencji uniemożliwia usunięcie nieprawidłowych nukleotydów. Ponieważ uszkodzenie materiału genetycznego jest głównym powodem transformacji nowotworowej komórek, taka inhibicja naprawy DNA przez Cd(II) jest uważana za kluczowy mechanizm karcynogenności właściwości pierwiastka (HARTWIG i SCHWERTLE 2002).

Poza systemem naprawy genomu, integralność tkanek jest podstawą do ich prawidłowego funkcjonowania, natomiast jej utrata może prowadzić do zmian w sygnalizacji

międzykomórkowej i w efekcie zaburzenia funkcji tkanek i narządów. Właściwą integralność tkanek zapewnia układ E-kadheryny i  $\beta$ -kateniny. Zaproponowano więc, że karcynogenne właściwości kadmu mogą być też rezultatem modyfikacji funkcjonowania tych białek przez metal (PEARSON i PROZIALECK 2001). E-kadheryny są transbłonowymi glikoproteinami warunkującymi prawidłowe przyleganie komórek w tkance, co zapewnia jej integralność. Zewnątrzkomórkowa domena kadheryn posiada miejsce wiążące Ca(II), natomiast domena wewnątrzkomórkowa łączy się ze szkieletem komórki poprzez kateniny. Kateniny z kolei mogą funkcjonować jako

cząsteczki sygnalizacyjne przemieszczające się do jądra i wiążące z czynnikami transkrypcyjnymi, zmieniającymi ekspresję takich genów jak *c-jun* i *c-myc* (WAISBERG i współaut. 2003). Wiązanie Ca(II) z kadherynami aktywuje te białka i działa supresorowo na  $\beta$ -kateniny, co wywołuje efekt antykarcynogeny. Kadm natomiast, ze względu na możliwość podstawienia Ca(II), prowadzi do zmian konformacyjnych E-kadheryn, co z jednej strony niszczy połączenia międzykomórkowe, z drugiej zaś aktywuje  $\beta$ -kateniny, mogące powodować niekontrolowany wzrost i podziały komórko- we (PROZIALECK i współaut. 2003).

### INDUKCJA APOPTOZY PRZEZ KADM

Toksyczne działanie kadmu w komórkach prowadzi do zaburzenia ich funkcjonowania, uszkodzenia struktury i w konsekwencji do ich rozpadu, zazwyczaj na drodze nekrozy. Jednak liczne badania dowodzą, że kadm może również powodować eliminację komórek drogą programowej śmierci – apoptozy (PULIDO i PARRISH 2003). Mitochondria uważane są za centrum apoptozy w komórce, gdyż czynniki uwolnione z przestrzeni międzybłonowej, takie jak cytochrom *c* – aktywator kaspaz, AIF – czynnik indukujący apoptozę (ang. apoptosis-inducing factor), czy Smac – represor inhibitora kaspaz, kierują komórkę na drogę programowej śmierci (SPIERINGS i współaut. 2005). Czynniki te ulegają uwolnieniu na skutek wzrostu przepuszczalności błony mitochondrialnej. Tak więc, uszkodzenie błony mitochondrialnej przez kadm (DORTA i współaut. 2003) może włączać szlak programowej śmierci komórki. Rzeczywiście stwierdzono, że kadm powoduje obniżenie potencjału błonowego mitochondrium, czemu towarzyszy wypływ do cytozolu cytochromu *c* (LI i współaut. 2003) oraz aktywacja kaspazy-9, kluczowego enzymu apoptozy, aktywującego dalsze proteazy efektorowe (WÄTJEN i współaut. 2002). Za takim mechanizmem indukcji apoptozy przez kadm przemawia również fakt, że przy nadekspresji Bcl-2, białka chroniącego integralność błony mitochondrialnej, obserwuje się inhibicję wywołanej przez metal apoptozy, dzięki zahamowaniu zarówno uwalniania cytochromu *c* jak i aktywacji kaspazy (BIAGIOLI i współaut. 2001). Kadm może również indukować apoptozę przez aktywację innych kaspaz, na przykład kaspazy-8, która induku-

je uwalnianie cytochromu *c* lub też bezpośrednio aktywuje efektorowe kaspazy 3 i 7, prowadząc do apoptycznej fragmentacji DNA (LI i współaut. 2000). Pod wpływem kadmu obniża się też poziom antyapoptycznego białka Bcl-x<sub>L</sub>, zwiększa natomiast koncentracja Bcl-x<sub>S</sub>, induktora apoptozy, który jest produktem rozkładu Bcl-x<sub>L</sub>, co również prowadzi do uwolnienia cytochromu *c* z mitochondrium (LI i współaut. 2000).

Indukcja apoptozy przez kadm może też zachodzić drogą niezależną od kaspaz. Stwierdzono bowiem, że fragmentacja DNA pod wpływem kadmu jest hamowana przez inhibitory kalpain – zależnych od Ca(II) proteaz. Tak więc kadm, mobilizując jony wapnia z retikulum endoplazmatycznego, aktywuje kalpains, prowadząc ostatecznie do fragmentacji DNA (LI i współaut. 2000). W komórkach inkubowanych z CdCl<sub>2</sub> stwierdzono, że apoptycznej fragmentacji DNA towarzyszy wzrost poziomu reaktywnych form tlenu, natomiast dodatek antyoksydantów hamuje apoptozę indukowaną przez ten metal (WÄTJEN i BEYERSMANN 2004). Tak więc włączenie szlaku programowej śmierci komórki przez Cd(II) może być również efektem indukcji stresu oksydacyjnego przez ten metal. Pogląd ten potwierdzają badania wykonane *in vivo*, w których wykazano dodatkowo istotną rolę cynku w tym procesie; obniżenie bowiem jego koncentracji pod wpływem Cd(II) skutkuje wzrostem indeksu apoptycznego (BONDA i współaut. 2004).

Podsumowując należy podkreślić, że wszystkie opisane w tej pracy toksyczne efekty kadmu w komórkach i tkankach są wynikiem działania jonów tego metalu nie zwią-



zanych z metalotioneiną (MT). Powszechnie uważa się, że Cd(II), tworząc kompleks z MT w cytoplazmie, traci swoją reaktywność. Według niektórych autorów obecność MT w komórkach skutkuje wzrostem oporności organizmu na toksyczne oddziaływanie kad-

mu nawet 8-krotnie (KLAASSEN i współaut. 1999). Więcej informacji na temat tego białka Czytelnik może znaleźć w innych artykułach (WŁOSTOWSKI 1995, KLAASSEN i współaut. 1999, HAQ i współaut. 2003).

## METABOLISM AND TOXICITY OF CADMIUM IN HUMANS AND ANIMALS

### Summary

Cadmium (Cd(II)) is one of the most important toxic chemicals due to its increasing level in the environment as a result of industrial and agricultural practices. Cd(II) has a very long biological half-life (10–30 years) in humans and its toxicity is dependent on the dose, route and duration of exposure. Cd(II) is absorbed from the gastro-intestinal tract primarily by utilizing transporters for essential elements such as iron and zinc, as well as calcium

channels. In this review multiple mechanisms of Cd(II) toxicity are discussed, such as interference with enzymes of the cellular antioxidant system and generation of reactive oxygen species, modulation of signal transduction and gene expression, inhibition of DNA repair and DNA methylation, and disruption of E-cadherin-mediated cell-cell adhesion. The role of Cd(II) in apoptosis is also discussed.

### LITERATURA

- ALNASSER I. A., 2000. *Cadmium hepatotoxicity and alterations of mitochondrial function*. J. Toxicol. Clin. Toxicol. 38, 407–413.
- ANDERSEN O., NIELSEN J. B., SORENSEN J. A., SCHERREBECK L., 1994. *Experimental localization of intestinal uptake sites for metals (Cd, Hg, Zn, Se) in vivo in mice*. Environ. Health Perspect. 102, 199–206.
- ANDREWS G. K., 2000. *Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions*. Biochem. Pharmacol. 59, 95–104.
- ASMUSS M., MULLENDERS L. H., EKER A., HARTWIG A., 2000. *Differential effects of toxic metal compounds on the activities of Fpg and XPA, two zinc finger proteins involved in DNA repair*. Carcinogenesis 20, 2097–2104.
- BANNON D. I., ABOUNADER R., LEES P. S. J., BRESSLER J. P., 2003. *Effect of DMT1 knockdown on iron, cadmium, and lead uptake in Caco-2 cells*. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 284, C44–C50.
- BARTOSZ G., 2004. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. PWN, Warszawa.
- BEIGLBOCK C., STEINECK T., TATARUCH F., RUF T., 2002. *Environmental cadmium induces histopathological changes in kidneys of roe deer*. Environ. Toxicol. Chem. 21, 1811–1816.
- BEM E. K., PIOTROWSKI J. K., TURZYŃSKA E., 1993. *Cadmium, zinc and copper levels in the kidneys and liver of the inhabitants of north-eastern Poland*. Pol. J. Occupat. Med. Environ. Health 6, 133–141.
- BIAGIOLI M., WÄTJEN W., BEYERSMANN D., ZONCU R., CAPPELINI C., RAGGHIANI M., CREMISI F., BUCCI S., 2001. *Cadmium-induced apoptosis in murine fibroblasts is suppressed by Bcl-2*. Arch. Toxicol. 75, 313–320.
- BLAZKA M. E., SHAIKH Z. A., 1991. *Sex differences in hepatic and renal cadmium accumulation and metallothionein induction. Role of estradiol*. Biochem. Pharmacol. 41, 775–780.
- BONDA E., WŁOSTOWSKI T., KRASOWSKA A., 2004. *Testicular toxicity induced by dietary cadmium is associated with decreased testicular zinc and increased hepatic and renal metallothionein and zinc in the bank vole (Clethrionomys glareolus)*. Biometals 17, 615–624.
- BRIDGES C. C., ZALUPS R. K., 2005. *Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 204, 274–308.
- BRZÓSKA M.M., MONIUSZKO-JAKONIUK J., 1998. *The influence of calcium content in the diet on accumulation and toxicity of cadmium in the organism*. Arch. Toxicol. 72, 63–73.
- CASALINO E., CALZARETTI G., SBLANO C., LANDRISCINA C., 2000. *Cadmium-dependent enzyme activity alteration is not imputable to lipid peroxidation*. Arch. Biochem. Biophys. 383, 288–295.
- CASALINO E., CALZARETTI G., SBLANO C., LANDRISCINA C., 2002. *Molecular inhibitory mechanism of antioxidant enzymes in rat liver and kidney by cadmium*. Toxicology 179, 37–50.
- CHMIELNICKA J., CHERIAN M. G., 1986. *Environmental exposure to cadmium and factors affecting trace element metabolism and metal toxicity*. Biol. Trace Elem. Res. 10, 243–262.
- CHUN Y. S., CHOI E., KIM G. T., CHOI H., KIM C. H., LEE M. J., KIM M. S., PARK J. W., 2000. *Cadmium blocks hypoxia-inducible factor (HIF)-1-mediated response to hypoxia by stimulating the proteasome-dependent degradation of HIF-1 alpha*. Eur. J. Biochem. 267, 4198–4204.
- CRAGG R. A., CHRISTIE G. R., PHILIPS S. R., RUSSI R. M., KURY S., MATHERS J. C., TAYLOR P. M., FORD D., 2001. *A novel zinc-regulated human zinc transporter, hZTL1, is localized to the enterocytes apical membrane*. J. Biol. Chem. 277, 22789–22797.
- DMOWSKI K., KOZAKIEWICZ M., KOZAKIEWICZ A., 1995. *Ecological effects of heavy metal pollution (Pb, Cd, Zn) on small mammal populations and communities*. Bull. Pol. Acad. Sci. Biol. Sci. 43, 1–9.
- DORTA D. J., LEITE S., DEMARCO K. C., PRADO I. M. R., RODRIGUES T., MINGATTO F. E., UYEMURA S. A., SANTOS A. C., CURTI C., 2003. *A proposed sequence of events for cadmium-induced mitochondrial impairment*. J. Inorg. Biochem. 97, 251–257.
- ELSENHANS B., STRUGALA G. J., SCHAFER S. G., 1997. *Small-intestinal absorption of cadmium and the significance of mucosal metallothionein*. Hum. Exp. Toxicol. 16, 429–434.

- GROTEN J. P., LUTEN J. B., VAN BLADEREN P. J., 1992. *Dietary iron lowers the intestinal uptake of cadmium-metallothionein in rats*. Eur. J. Pharmacol. 228, 23-28.
- HAQ F., MAHONEY M., KOROPATNICK J., 2003. *Signaling events for metallothionein induction*. Mut. Res. 533, 211-226.
- HARDINGHAM G. E., CHAWLA S., JOHNSON C. M., BADING H., 1997. *Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression*. Nature 385, 260-265.
- HARTWIG A., SCHWERDTLE T., 2002. *Interactions by cancerogenic metal compounds with DNA repair processes: toxicological implications*. Toxicol. Lett. 127, 47-54.
- HECHTENBERG S., BEYERSMANN D., 1991. *Inhibition of sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity by cadmium, lead and mercury*. Enzyme 45, 109-115.
- HORIGUCHI H., OGUMA E., SASAKI S., MIYAMOTO K., IKEDA Y., MAHIDA M., KAYAMA F., 2004. *Comprehensive study of the effects of age, iron deficiency, diabetes mellitus, and cadmium burden on dietary cadmium absorption in cadmium-exposed female Japanese farmers*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 196, 114-123.
- IARC 1993. *Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry*. [W:] IARC: *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 58, 41-117.
- ILYASOVA D., SCHWARTZ G. G., 2005. *Cadmium and renal cancer*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 207, 179-186.
- JÄRUP L., BERGLUND M., ELINDER C.G., NORDBERG G., VAHTER M., 1998. *Health effects of cadmium exposure: a review of the literature and risk estimate*. Skand. J. Work Environ. Health 24, 1-51.
- JIN T., NORDBERG M., FRECH W., DUMONT X., BERNARD A., YE T., KONG Q., WANG Z., LI P., LUNDSTRÖM N. G., LI Y., NORDBERG G. F., 2002. *Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad)*. Bio-metals 15, 397-410.
- JOSEPH P., MUCHNOK T. K., KLISHIS M. L., ROBERTS J. R., ANTONINI J. M., WHONG W. Z., ONG T., 2001. *Cadmium-induced cell transformation and tumorigenesis are associated with transcriptional activation of c-fos, c-jun, and c-myc protooncogenes: role of cellular calcium and reactive oxygen species*. Toxicol. Sci. 61, 295-303.
- JOSEPH P., LEI Y. X., ONG T., 2004. *Up-regulation of expression of translation factors - a novel mechanism for cadmium carcinogenesis*. Mol. Cell. Biochem. 255, 93-101.
- KLAASSEN C. D., LIU J., CHOUDHURI S., 1999. *Metallothionein: an intracellular protein to protect against cadmium toxicity*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 39, 267-294.
- KOPERA E., SCHWERDTLE T., HARTWIG A., BAL W., 2004. *Co(II) and Cd(II) substitute for Zn(II) in the zinc finger derived from the DNA repair protein XPA, demonstrating a variety of potential mechanisms of toxicity*. Chem. Res. Toxicol. 17, 1452-1458.
- LARISON J. R., LIKENS G. E., FITZPATRICK J. W., CROCK J. G., 2000. *Cadmium toxicity among wildlife in the Colorado Rocky Mountains*. Nature 406, 181-183.
- LAROCHELLE O., GAGNE V., CHARRON J., SOH J. W., SEGUIN C., 2001. *Phosphorylation is involved in the activation of metal-regulatory transcription factor 1 in response to metal ions*. J. Biol. Chem. 276, 41879-41888.
- LI M., KONDO T., ZHAO Q. L., LI F. J., TANABE K., ARAI Y., ZHOU Z. C., KASUYA M., 2000. *Apoptosis induced by cadmium in Human Lymphoma U937 cells through Ca<sup>2+</sup>-calpain and caspase-mitochondria-dependent pathways*. J. Biol. Chem. 275, 39702-39709.
- LI M., XIA T., JIANG C. S., LI L. J., FU J. L., ZHOU Z. C., 2003. *Cadmium directly induced the opening of membrane permeability pore of mitochondria which possibly involved in cadmium-triggered apoptosis*. Toxicology 194, 19-33.
- LIU J., HABEEBU S. S., LIU Y., KLAASSEN C. D., 1998. *Acute CdMT injection is not a good model to study chronic Cd nephropathy: comparison of chronic CdCl<sub>2</sub> and CdMT exposure with acute CdMT injection in rats*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 153, 48-58.
- NOMIYAMA K., NOMIYAMA H., 1998. *Cadmium-induced renal dysfunction: new mechanism, treatment and prevention*. J. Trace Elem. Exp. Med. 11, 275-288.
- PALMITER R. D., FINDLEY S. D., 1995. *Cloning and functional characterization of a mammalian zinc transporter that confers resistance to zinc*. EMBO J 14, 639-649.
- PARK J. D., CHERRINGTON N. J., KLAASSEN C. D., 2002. *Intestinal absorption of cadmium is associated with divalent metal transporter 1 in rats*. Toxicol. Sci. 68, 288-294.
- PEARSON C. A., PROZIALECK W. C., 2001. *E-cadherin, beta-catenin and cadmium carcinogenesis*. Med. Hypotheses 56, 573-581.
- POTTS R. J., BESPALOV L. A., WALLACE S. S., MELAMEDE R. J., HART B. A., 2001. *Inhibition of oxidative DNA repair in cadmium-adapted alveolar epithelial cells and the potential involvement of metallothionein*. Toxicology 161, 25-38.
- POURAHMAD J., O'BRIEN P. J., 2000. *A comparison of hepatocyte cytotoxic mechanisms for Cu<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup>*. Toxicology 143, 263-273.
- POURAHMAD J., O'BRIEN P. J., JOKAR F., DARAEI B., 2003. *Carcinogenic metal induces reactive oxygen species formation in hepatocytes*. Toxicol. Vitro 17, 803-810.
- PROZIALECK W. C., LAMAR P. C., LYNCH S. M., 2003. *Cadmium alters the localization of N-cadherin, E-cadherin, and B-cadherin in the proximal tubule epithelium*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 189, 180-195.
- PULIDO M. D., PARRISH A. R., 2003. *Metal-induced apoptosis: mechanism*. Mut. Res. 533, 227-241.
- REEVES P. G., CHANEY R. L., 2001. *Mineral status of female rats affect the absorption and organ distribution of dietary cadmium derived from edible sunflower kernels (Helianthus annuus L.)*. Environ. Res. 85, 215-225.
- RYU D. Y., LEE S. J., PARK D. W., CHOI B. S., KLAASSEN C. D., PARK J.D., 2004. *Dietary iron regulates intestinal cadmium absorption through iron transporters in rats*. Toxicol. Lett. 152, 19-25.
- SATARUG S., MOORE M. R., 2004. *Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke*. Environ. Health Perspect. 112, 1099-1103.
- SATARUG S., HASWELL-ELKINS M. R., MOORE M. R., 2000. *Safe levels of cadmium intake to prevent renal toxicity in human subjects*. Br. J. Nutr. 87, 791-802.
- SATARUG S., BAKER J. R., URBENJAPOL S., HASWELL-ELKINS M., REILLY P. E. B., WILLIAMS D. J., MOORE M. R., 2003. *A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population*. Toxicol. Lett. 137, 65-83.
- SHAIKH Z. A., VU T. T., ZAMAN K., 1999. *Oxidative stress as a mechanism of chronic cadmium-induced hepatotoxicity and renal toxicity and pro-*

- tection by antioxidants. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 154, 256–253.
- SIRAKI A. G., POURAHMAD J., CHAN T. S., KHAN S., O'BRIEN P. J., 2002. *Endogenous and endobiotic induced reactive oxygen species formation by isolated hepatocytes*. *Free Rad. Biol. Med.* 32, 2–10.
- SMIRNOVA I. V., BITTEL D. C., RAVINDRA R., JIANG H., ANDREWS G. K., 2000. *Zinc and cadmium can promote rapid nuclear translocation of metal response element-binding transcription factor-1*. *J. Biol. Chem.* 275, 9377–9384.
- SMITH J. B., SMITH L., PIJUAN V., ZHUANG Y., CHEN Y. C., 1994. *Transmembrane signals and protooncogene induction evoked by carcinogenic metals and prevented by zinc*. *Environ. Health Perspect.* 102, 181–189.
- SOUZA V., BUCIO L., GUTIERREZ-RUIZ M. C., 1997. *Cadmium uptake by a human hepatic cell line (WRL-68 cells)*. *Toxicology* 120, 215–220.
- SPIERINGS D., MCSTAY G., SALEH M., BENDER C., CHIPUK J., MAURER U., GREEN D. R., 2005. *Connected to death: the (unexpurgated) mitochondrial pathway of apoptosis*. *Science* 310, 66–67.
- STOHS S. J., BAGCHI D., HASSOUN E., BAGCHI M., 2001. *Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions*. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 20, 77–88.
- TAKIGUCHI M., ACHANZAR W. E., QU W., LI G., WAALKES M. P., 2003. *Effects of cadmium on DNA (cytosine-5) methyltransferase activity and DNA methylation status during cadmium-induced cellular transformation*. *Exp. Cell. Res.* 286, 355–365.
- TALLKVIST J., BOWLUS C. L., LONNERDAL B., 2001. *DMT1 gene expression and cadmium absorption in human absorptive enterocytes*. *Toxicol. Lett.* 122, 171–177.
- TATRAI E., KOVACIKIVA A., HUDAK Z., ADAMIS G., UNGVARY G., 2001. *Comparative in vitro toxicity of cadmium and lead on redox cycling in type II pneumocytes*. *J. Appl. Toxicol.* 21, 479–483.
- THEVENOD F., FRIEDMANN J. M., KATSEN A. D., HAUSER I. A., 2000. *Up-regulation of multidrug resistance P-glycoprotein via nuclear factor kappa  $\beta$  activation protects kidney proximal tubule cells from cadmium- and reactive oxygen species-induced apoptosis*. *J. Biol. Chem.* 275, 1887–1896.
- WAALKES M. P., 2003. *Cadmium carcinogenesis*. *Mut. Res.* 533, 107–120.
- WAISBERG M., JOSEPH P., HALE B., BEYERSMANN D., 2003. *Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis*. *Toxicology* 192, 95–117.
- WANG Y., FANG J., LEONARD S. S., RAO K. M. K., 2004. *Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species*. *Free Rad. Biol. Med.* 11, 1434–1443.
- WÄTJEN W., BEYERSMANN D., 2004. *Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: influence of oxidative stress*. *Biometals* 17, 65–78.
- WÄTJEN W., BENTERS J., HAASE H., SCHWEDE F., JASTORFF B., BEYERSMANN D., 2001. *Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> increase the cyclic GMP level in PC12 cells by inhibition of the cyclic nucleotide phosphodiesterase*. *Toxicology* 157, 167–175.
- WÄTJEN W., HAASE H., BIAGIOLI M., BEYERSMANN D., 2002. *Induction of apoptosis in mammalian cells by cadmium and zinc*. *Environ. Health Perspect.* 110, 865–867.
- WITTMAN R., HU H., 2002. *Cadmium exposure and nephropathy in a 28-year-old female metals worker*. *Environ. Health Perspect.* 110, 1261–1266.
- WŁOSTOWSKI T., 1995. *Metalotioneina a podział komórki*. *Kosmos* 44, 89–98.
- WŁOSTOWSKI T., KRASOWSKA A., ŁASZKIEWICZ-TISZCZENKO B., 2000. *Dietary cadmium induces histopathological changes despite a sufficient metallothionein level in the liver and kidneys of the bank vole (Clethrionomys glareolus)*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 126, 21–28.
- ZALUPS R. K., AHMAD S., 2003. *Molecular handling of cadmium in transporting epithelia*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 186, 163–188.