

Sıçan Testis Dokusunda Kadmiyum Klorür'ün Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler ve Bu Değişiklikler Üzerine Metallothionein'nin Etkileri: Işık Mikroskopik Çalışma

STRUCTURAL CHANGES INDUCED BY CADMIUM CHLORIDE AND EFFECTS OF METALLOTHIONEIN ON THESE CHANGES IN RAT TESTICULAR TISSUE: A LIGHT MICROSCOPIC STUDY

Dr.Neriman ÇOLAKOĞLU,^a Dr.Aysel KÜKNER,^a Dr.Haki KARA,^b Dr.Enver OZAN^a

^aHistoloji&Embriyoloji AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,

^bFırat Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, ELAZIĞ

Özet

Amaç: Bu çalışmada kadmiyum klorür'ün testis dokusunda oluşturduğu hasar ve kadmiyum klorür ile birlikte koruyucu amaçlı uygulanan Metallothionein'nin testis dokusu üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 36 adet Wistar cinsi ergin erkek sıçan kullanıldı. Denekler 3 gruba ayrıldı. Birinci grup sıçanlara (n:16) deri altı yolla 3.5 mg/kg/gün kadmiyum klorür, ikinci grup sıçanlara (n:16) deri altı yolla 3.5 mg/kg/gün kadmiyum klorür ve periton içi 30 µmol/kg/gün Metallothionein enjekte edildi. Üçüncü grup sıçanlar (n:4) ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Çalışmanın 1., 3., 5. ve 7. günlerinde deneklerden eter anestezisi altında testis dokuları alındı, %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi, parafin blokler hazırlandı. Alınan kesitlere Hematoksilin & Eosin ve Masson'un üçlü boyası uygulandı. Histopatolojik değişiklikler açısından skorlama yapıldı.

Bulgular: Çalışma sonunda testis dokularının makroskopik incelenmesi sonucu kadmiyum klorür etkisiyle dokunun morumsu bir renk aldığı görüldü. Işık mikroskopik incelemelerde ise, kadmiyum klorür, özellikle uygulandığı 3. gününden itibaren dokuda ciddi hasar meydana getirdiği gözlemlendi. Doku hasarının şiddeti zamana bağlı olarak artış göstermekte idi. Kadmiyum klorür'ün tunika albuginea'da kalınlaşmaya, seminifer tübül yapılarında bozulmaya, tübüller arası bağ dokusu artışına yol açtığı saptandı. Koruma amacıyla kadmiyum klorür ile birlikte metallothionein uygulanan gruplarda da benzer yapısal bozukluklar tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak, bu çalışmada kadmiyum klorür'ün testis dokusu için oldukça toksik bulunduğu ve şiddetli yapısal bozukluklara sebep olduğu saptandı. Metal bağlayan bir protein olan metallothionein'nin ise kadmiyumun sebep olduğu hasarı önleyemediği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, metallothionein, testis, ışık mikroskopu

T Klin J Med Sci 2004,24:201-206

Geliş Tarihi/Received: 16.04.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 25.02.2004

^fBu çalışma VI. Ulusal Histoloji Kongresi (12-15 Eylül 2002) Cerrahpaşa/İSTANBUL'da Poster olarak Sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji&Embriyoloji AD,
ELAZIĞ

Copyright © by Türkiye Klinikleri

T Klin J Med Sci 2004, 24

Abstract

Objective: This study was undertaken to investigate cadmium chloride-induced changes and the purported protective effects of co-administration of metallothionein in the testicular tissue.

Material and Methods: Thirty-six adult Wistar rats were divided into three groups. Cadmium chloride (3.5mg/kg/day) was subcutaneously (sc) injected to the first group (n = 16), whereas the second group of rats (n = 16) received both cadmium chloride (3.5mg/kg/day sc) and metallothionein (30µmol/kg/day intraperitoneally). The 3rd group (n = 4) functioned as control. On the 1st, 3rd, 5th and 7th day of the study, testicular tissue samples were taken under ether anesthesia and fixed with 10% formaldehyde solution, then prepared in paraffin blocks for light microscopic examination. Tissue sections were stained with hematoxylin-eosin and Masson's Trichrom. Scoring was done for histopathological alterations.

Results: In the macroscopic examination, all testes tissues appeared to be purplish. On light microscopic examination, particularly after the 3rd day of injection of cadmium chloride, severe tissue damage was evident. The damage gradually increased relative to the time of administration of cadmium chloride. It was determined that cadmium chloride led to thickening of the tunica albuginea, damage to seminiferous tubules and increase in interstitial connective tissue. Similar structural changes were observed in the group that was co-administered metallothionein for protection.

Conclusion: It was established that cadmium was toxic for testes and caused severe structural damage. Metallothionein, a metal-binding protein, failed to prevent cadmium chloride-induced damage.

Key Words: Cadmium, metallothionein, testes, light microscope

Kadmiyum mineral madenciliği, tarım ve endüstri gibi bir çok değişik insan aktivitesi sonucu çevremizde açığa çıkan toksik bir metaldir. Kadmiyumun biyolojik yarılanma ömrü çok uzun olduğu için biyoakümülyasyonu ile toprakta kontaminasyon meydana gelmektedir.¹ Bu metal yaşlı ve sigara içenlerin kanında, seminal plazmasında ve

folliküler sıvısında artış göstermektedir.² Kadmiyum gonadotropin, ovarial progesteron ve ovulasyon oranını düşürmekte,³ plasenta yapısını bozarak gebeliği de ters yönde etkilemektedir.⁴ Uzun süre kadmiyuma maruz kalınması sonucu birçok organda özellikle erkek ve dişi üreme sisteminde, böbrekler ve endokrin sistemde yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelmektedir.¹ Kadmiyum organizmada direk olarak ya da immün sistem gibi homeostatik mekanizmaları etkileyerek toksik etki göstermektedir.⁵ Yine kadmiyum'un dokularda meydana getirdiği hasarın, antioksidan savunma sisteminde meydana gelen bozuklukla ilgili olduğu düşünülmektedir. Çünkü kadmiyum uygulamasını takiben katalaz, glutatyon, glutatyon peroksidaz miktarlarında azalma olurken,⁶ lipid peroksidasyonunda artış⁷ meydana gelmektedir. Kadmiyum primer olarak karaciğer ve böbrekler tarafından elimine edilmektedir.⁸

Oksidatif stres veya ağır metallerle maruz kalma sırasında hücreyi koruyucu etkisi ile açığa çıktığı bildirilen Metallothionein (MT) ise sisteinden zengin metal bağlayan bir proteindir.⁹ Oniki saat süren yoğun stresin sonunda MT mRNA miktarının 30 kat arttığı rapor edilmiştir. Stresi takiben MT protein miktarında da artış saptanmıştır. MT en yüksek oranda karaciğerde takiben de akciğer, kalp ve dalakta üretilmektedir.¹⁰ Memelilerde MT'nin 4 izoformu bulunmakla birlikte en fazla MT-I ve MT-II dikkat çekmektedir.¹¹

Bu çalışmanın amacı, testislerde kadmiyumun oluşturduğu hasar üzerine ekzojen uygulanan MT'nin koruyucu etkisinin olup olmadığının ışık mikroskopik olarak belirlenmesidir.

Gereç ve Yöntemler

Çalışma ile ilgili olarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındı ve "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" prensiplerine uyularak hayvan haklarının korunması ile ilgili gereken titizlik gösterildi. Çalışmada 36 adet Wistar cinsi ergin erkek sıçan kullanıldı. Denekler 3 gruba ayrıldı. Birinci grup sıçanlara (n: 16) deri altı yolla 3.5 mg/kg/gün kadmiyum klorür, ikinci grup sıçanlara (n: 16) deri altı yolla 3.5 mg/kg/gün kadmiyum klorür ile birlikte periton içi

30 µmol/kg/gün metallothionein enjekte edildi. Üçüncü grup sıçanlar (n: 4) ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Kadmiyum klorür ve MT uygulamasının 1., 3., 5. ve 7. günlerinde deneklerden eter anestezisi altında testis dokuları alındı, %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi ve ışık mikroskopik takip serilerinden geçirilip, parafin bloklar hazırlandı. Alınan 5µm'lik kesitlere Hematoksilin & Eosin, Masson'un üçlü boyası uygulandı. Kesitler Olympus BH2 fotomikroskopta incelenip fotoğraflandı. Her sıçanın dokusu gross olarak renk değişikliği açısından muayene edildi ve her denekten peş peşe alınan 10 kesit histopatolojik değişiklikler açısından değerlendirildi. Çalışma sonunda meydana gelen histopatolojik değişiklikler bir referansa bağlı kalmaksızın kontrol grubuna ait kesitler baz alınarak tarafımızdan yapıldı. Gruplar arasındaki yapısal bozukluk şiddetindeki farklılıklar açısından skorlama yapıldı.

İstatiksel Analiz

Deneyisel çalışma sonunda testis preparatlarında, her gruptan 50 seminifer tübül çapı mikroskoba uyarlanan oküler mikrometre ile ölçüldü. Elde edilen değerler bilgisayar ortamında SPSS 10.0 (SPSS Inc. Chigaco, IL, USA) istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Veriler aritmetik ortalama ± standart sapma (SS) şeklinde tabloda ifade edildi. Gruplar arası farklılıklar Student's t testi kullanılarak ve p<0.05 değeri baz alınarak saptandı.

Bulgular

Deney sonunda alınan testislerin makroskopik incelenmesinde, kadmiyum klorür ve kadmiyum klorür ile birlikte MT uygulanan gruplara ait olan dokuların özellikle deneyin 3. gününden itibaren morumsu bir renk aldığı görüldü. Yapılan mikroskopik incelemelerde kontrol grubuna ait olan testislerde tunika albuginea, seminifer tübül, interstisiyel alan ve bu alanda bulunan Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Resim 1,2). Kadmiyum klorür uygulamasının 1. gününde tunika albuginea ve seminifer tübül yapıları kontrol grubuna benzerken interstisiyel bağ dokusunda bir miktar artış tespit edildi (Resim 3). Üç gün boyunca

ca kadmiyum klorür uygulanan grupta dejeneratif etki belirgin olarak gözlemlendi. Bu gruba ait deneklerin t.albugineasında kalınlaşma, heterokromatik spermatogenik hücreler ve interstisiyel alanda bağ dokusu artışı tespit edildi. Ara bağ dokusunda normal yapı gösteren Leydig hücresine rastlanmadı (Resim 4). Kadmiyum klorür uygulamasının 5. ve 7. günlerinde deneklerin testis dokularındaki yapısal bozukluklar oldukça şiddetlendi. Bu gruplarda da t. albuginea'da kalınlaşma, seminifer tübüllerin bazılarında vakuolizasyon, seminifer tübül yapılarında düzensizlik ve içlerinde hiyalin madde birikmesi, spermatogenik seriye ait hücre sayısında azalma, interstisiyel bölgede bağ dokusu lifleri ve hücrelerinde artış tespit edildi. Normal yapı gösteren Leydig hücresi ayırt edilemedi (Resim 5,6,7). Kadmiyum klorür uygulamasının 7. gününde ayrıca seminifer tübül içinde solid yapılar da gözlemlendi (Resim 8). Kadmiyum klorür ile birlikte tedavi amacıyla Metallothionein verilen gruplarda da benzer yapısal bozukluklar tespit edildi. Deneyin özellikle 3. gününden itibaren kadmiyum klorür ile birlikte MT verilen grupların t. albugineasında kalınlaşma, interstisiyel bölgede bağ dokusu artışı saptandı. Tübül içinde solid yapılara kadmiyum ile birlikte MT uygulamasının 7. gününde de rastlandı (Resim 9).

Kadmiyum klorür ve kadmiyum klorürle birlikte MT uygulamasının neden olduğu yapısal değişiklikler gruplar arasındaki farklılıklara göre skorlandı. Bu skorlama sonucunda, MT'nin kadmiyum klorür toksisitesine karşı koruyucu etkisinin olmadığı I. ve II. gruplarda meydana gelen yapısal bozuklukların aynı derecede olduğu ve kontrol (III.grup) grubuna göre anlamlılık taşıdığı sonucuna varıldı (Tablo 1).

Yapılan istatistikî araştırma sonucunda ölçülen seminifer tübül çapları da histopatolojik bulguları destekler nitelikte idi. Buna göre deneyin 3. gününden itibaren tübül çaplarında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma saptandı. Deney grupları karşılaştırıldığında kadmiyum ve kadmiyum ile birlikte metallothionein uygulamasının 1. günü ile 3., 5. ve 7. günleri arasında tübül çapındaki azalma anlamlılık taşımaktaydı. Kadmiyum ve eş zamanlı olarak metallothioneinin birlik-

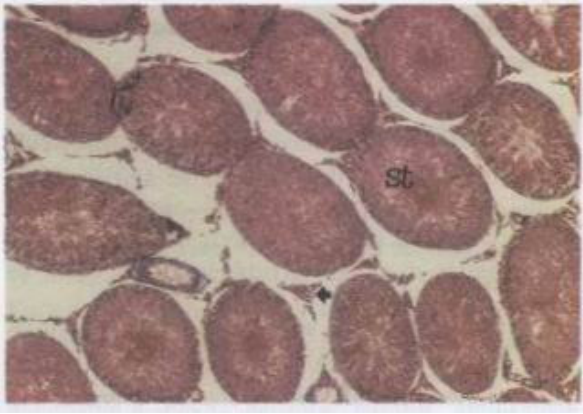
te verildiği gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında elde edilen değerler arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 2).

Tartışma

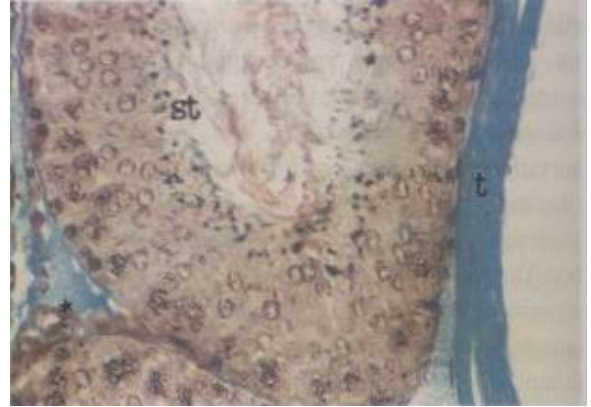
Bu çalışmada kadmiyum klorür'ün testislerde oluşturduğu yapısal değişiklikler ve ağır metalleri bağlayan bir protein olarak bilinen MT'nin oluşan bu hasar üzerine koruyucu bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

Kadmiyum birçok endüstriyel işlemden kullanılan, suda ve sedimentlerde bulunan en iyi bilinen çevre kirleticilerindendir. Batarya, pigment ve metal kaplamalarda kullanılmaktadır.⁵ MT'ler ise küçük moleküler ağırlıklı, sisteinden zengin ve ağır metal iyonlarına yüksek derecede afinitesi olan proteinlerdir. Bu proteinler memelilerin birçok dokusu tarafından açığa çıkarılmakta ve ağır metalleri detoksifiye etmektedir. Serbest radikallere karşı hücreleri koruyucu özellikleri vardır. Omurgalılarda bu polipeptidlerin ekspresyonu kadmiyum, çinko gibi metaller tarafından artırılmaktadır.¹¹

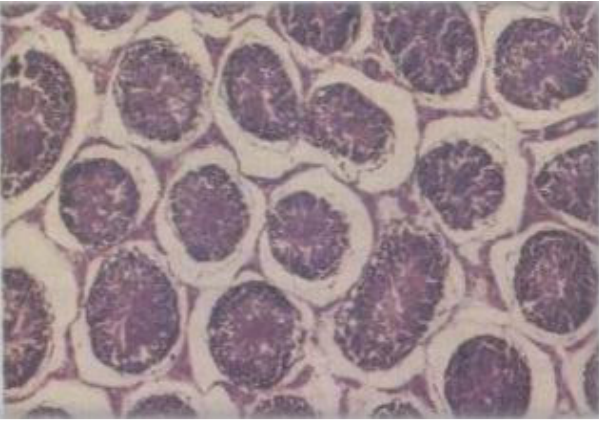
Kadmiyumun testislerde MT mRNA miktarını artırdığı fakat MT protein sentezinde herhangi bir artışa yol açmadığı bildirilmektedir. Testislerde kadmiyum'u MT'den farklı bir proteinin bağladığı, bu proteinin MT'e göre daha az sistein daha fazla glutamat içerdiği bildirilmektedir.¹² Kadmiyum spermatogenezis olayında etkili olan Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksini bozmakta^{1,12} spermatogenik seriye ait hücrelerde bozukluk oluşturmaktadır.¹ Yine çok düşük dozda kadmiyum'un testislerde hemorajik nekroza yol açtığı ve kemirici prostatında karsinojenik etkiye sahip olduğu¹¹ balık testisinde de germinal zonda hasara yol açtığı rapor edilmektedir.¹ Akut ve kronik kadmiyum uygulaması sonucunda kan-testesteron oranında düşüş¹³ ve duktus deferentteki spermatozoa miktarında azalma saptanmıştır.¹⁴ Hew ve arkadaşları,¹⁵ kadmiyumun spermatogonia, spermatosit ve spermatidlerin nekrozuna sebep olduğunu bildirmektedirler. Gouveia MA¹⁶ 1 mg/ml kadmiyumun periton içi enjeksiyonundan 24 saat sonra testislerde şiddetli ödem, 14 gün sonra ise atrofi, tübüllerde nekroz ve tübüller arası bağ dokusunda fibrozis meydana geldiğini bildirmektedir. Boscolo ve ar-



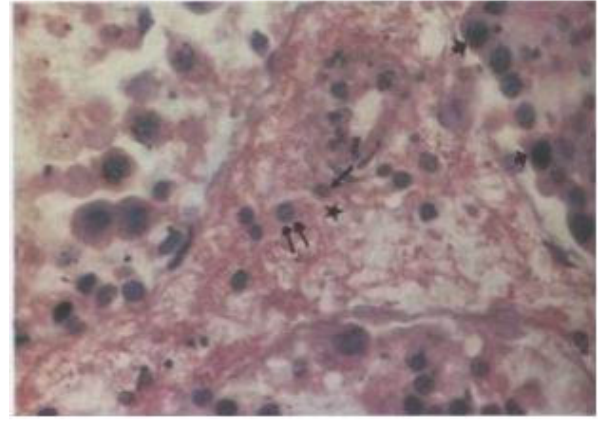
Resim 1. Kontrol grubuna ait testis dokusunda seminifer tübül (st) ve interstisiyel bağ dokusunun (ok) normal olduğu izlenmektedir. Masson'un Üçlü Boyası x 48.



Resim 2. Kontrol grubuna ait tunika albuginea (t), seminifer tübül (st) ve interstisiyel bölgedeki Leydig hücresi (*). Masson'un Üçlü boyası x 240.



Resim 3. Kadmiyum klorür uygulamasının 1. günü sonunda seminifer tübül yapıları normal olarak gözlenirken, ara bağ dokusu artışı dikkat çekmektedir. Hematoksilin Eozin x 48.

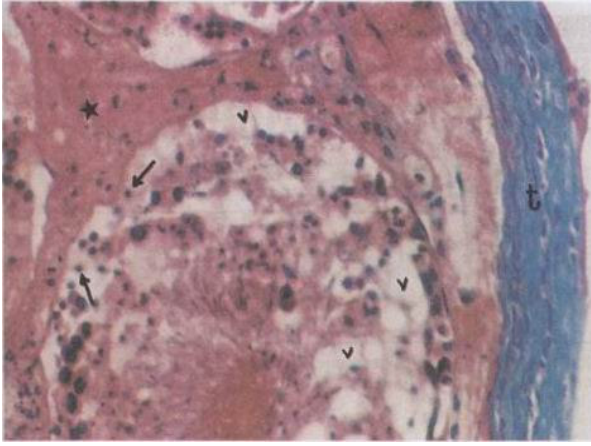


Resim 4. Kadmiyum klorür uygulamasının 3. günü sonunda heterokromatik spermatogonialar (kalın ok), ara bağ dokusu (*) artışı ve bağ dokusunda bulunan nötrofil (çift ok) ve monosit (ince ok) gözlenmektedir. Masson'un Üçlü Boyası x 480.

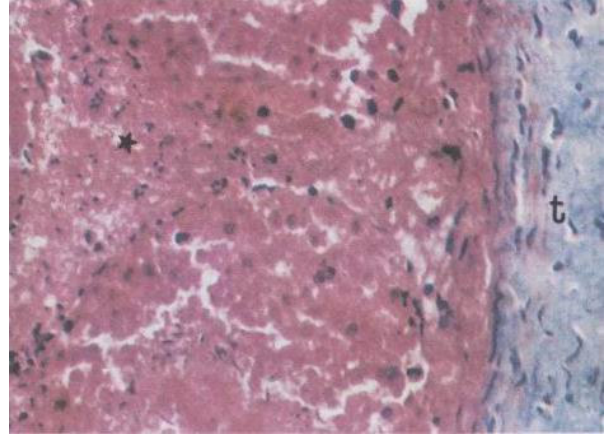
kadaşları,¹⁷ mililitresinde 20 mikrogram kadmiyum bulunan suyu 9 ay boyunca içen tavşanların spermatogenik hücrelerinde ve Leydig hücrelerinde önemli değişiklikler oluşmadığını tespit etmişlerdir. Fakat Sertoli hücrelerindeki lizozomların büyüklüklerinde artış saptamışlardır. Yapılan bu çalışmada 3.5 mg/kg kadmiyum klorür'ün deri altına verilmesi sonucu özellikle uygulamanın 3. gününden itibaren testis dokusunda şiddetli etkilenmenin olduğu saptandı. Kadmiyuma bağlı olarak t. albuginea'da kalınlaşma, interstisiyel bağ dokusunda artış, tübüllerin çoğunda spermatogenik seriye ait olan hücrelerin önemli derecede azaldığı ve tübüllerin bazılarında spermatogenik hücrelerin

yerini hiyalin maddeye bıraktığı saptandı. Ayrıca deneyin 3. gününden itibaren interstisiyel bölgede normal yapıda Leydig hücresi gözlenemedi.

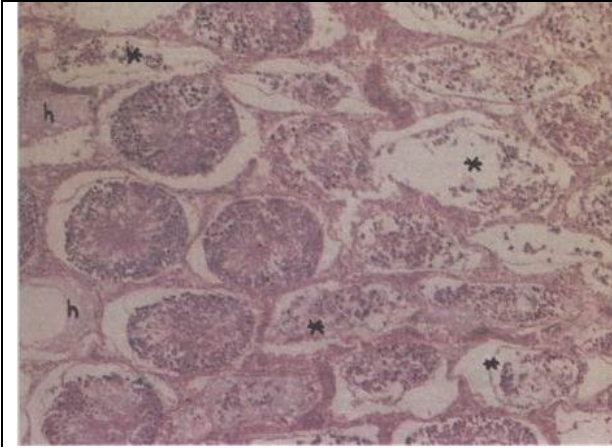
Kadmiyumun insanlarda da testis, spermatozoon fonksiyonu ve fertilité üzerine etkilerinin olduğu, spermatozoon aktivasyonunda inhibisyona yol açtığı bildirilmektedir.¹⁸ Kadmiyum uygulaması spermatozoon flagellasının mikrofibrillerinde ve akrozom membranında da önemli değişikliklere sebep olmakta, yüksek doz kadmiyumun ise öldürücü etkisinin olduğu bildirilmektedir.¹ Saygı S ve arkadaşları¹⁹ oral yoldan kadmiyum uygulaması sonucunda sıçanlarda testis dokusunda patolojik



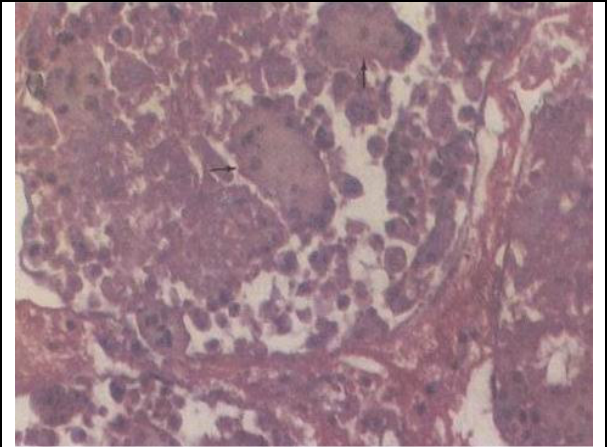
Resim 5. Kadmiyum klorür uygulamasının 5. günü. Tunika albuginea'daki (t) kalınlaşma, seminifer tübül içinde irili ufaklı hücreler (ok) ve vakuolizasyon (v) ve ara bağ dokusu artışı dikkat çekmektedir. Masson'un Üçlü Boyası x 240.



Resim 6. Kadmiyum klorür uygulamasının 7. günü. Tunika albuginea'daki (t) kalınlaşma ve ara bağ dokusu (*) artışı belirgin. Masson'un Üçlü Boyası x 240.



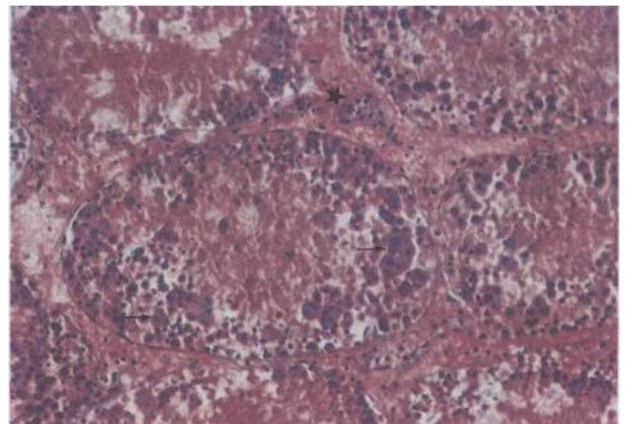
Resim 7. Kadmiyum klorür uygulamasının 7. günü sonunda normal yapıda gözlenen seminifer tübüller arasında yapısı oldukça düzensiz (*) ve hiyalin madde (h) içeren seminifer tübüller ve interstisyel bağ dokusu artışı ayırt edilmekte. Hematoksilen Eozin x 48.



Resim 8. Kadmiyum klorür uygulamasının 7. günü. Düzensiz spermatogjenik hücreler arasında bulunan solid yapılar (ok). Masson'un Üçlü Boyası x 240.

değişiklikler tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak sıçanların üreme kapasitelerinde %39.89 oranında düşüş olduğunu rapor etmektedirler. Bu çalışmada kadmiyumun sıçan testis dokusunda önemli derecede hasar oluşturmasının, fertilité üzerine olumsuz sonuçlar doğuracağını düşündürdü. Ağır metalleri detoksifiye etmesiyle bilinen ve normal fizyolojik koşullarda organizmada birçok doku tarafından üretilen MT'nin ekzojen verilmesi sonucunda kadmiyumun dejeneratif etkisinin ortadan kalkmadığı, benzer yapısal bozuklukların tedavi gruplarında da meydana geldiği gözlemlendi.

Sonuç olarak, çevremizde özellikle endüstriyel



Resim 9. Kadmiyum klorür ile birlikte 7 gün boyunca MT enjekte edilen gruba ait olan bir kesit. Seminifer tübül içindeki solid yapılar (ok) ve ara bağ dokusu artışı (*) bu grupta da belirgin. Masson'un Üçlü Boyası x 120.

Tablo 1. Kadmiyum Klorür ve Kadmiyum Klorür ile birlikte Metallothionein uygulamasını takiben testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin şiddetinin deney süresine bağlı olarak skorlanması.

Histopatolojik Bulgular	Kontrol		Kadmiyum Klorür Günler				Kadmiyum Klorür + MT Günler			
	1	3	5	7	1	3	5	7		
Gross muayenede mor renk	-	-	++	+++	+++	-	++	+++	+++	
İnterstitiyel bağ dokusu artışı	-	-	++	+++	+++	-	++	+++	+++	
ST'de hiyalin madde	-	-	-	+	++	-	-	+	++	
ST'de vakuolizasyon	-	-	-	+	++	-	-	++	++	
ST'de solid yapı	-	-	-	+	++	-	-	-	++	

Tabloda ST seminifer tübülü, histopatolojik değişiklikler yönünden -, yok; +, hafif derecede; ++, orta derecede; +++, şiddetli derecede meydana gelen yapısal değişiklikleri ifade etmektedir.

Tablo 2. Kadmiyum Klorür ve Kadmiyum Klorür ile birlikte Metallothionein (MT) uygulanan grupların testis seminifer tübül çapları (mikrometre, µm) tablo halinde verilmiştir.

Kontrol	1Cd	1CdMT	3Cd	3CdMT	5Cd	5CdMT	7Cd	7CdMT
296±21	295±23	293±16	275±6*	274±6*	270±5*	272±6	270±4*	270±4*

* p<0.05 kontrol ve 1 gün kadmiyum ve kadmiyum ile birlikte MT uygulanan grupların tübül çapları arasındaki anlamlı farklılığı ifade etmektedir. Cd, kadmiyum klorürü, CdMT kadmiyum ile metallothionein uygulamasını, grupların başındaki rakamlar ise uygulama süresini ifade etmektedir.

sahalarda çevrenin kadmiyum ile kontaminasyonuna karşı tedbirler alınması gerektiği, uzun süreli kadmiyum maruziyetinin infertilite gibi ciddi sorunlara yol açabileceği düşüncesindeyiz.

Teşekkür

İngilizce özet yazımı ve kontrolü Yrd.Doç.Dr Neriman ÇOLAKOĞLU ve çalışmanın istatistikî değerlendirmesi Yrd.Doç.Dr. Haki KARA tarafından yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Leoni G, Bogliolo L, Deiana G, et al. Influence of cadmium exposure on in vitro ovine gamete dysfunction. *Reprod Toxicol* 2002; 16(4): 371-7.
2. Lyon TD, Aughey E, Scott R, Fell GS. Cadmium concentration in human kidney in the UK: 1978-1993. *J Environ Monit* 1999; 227-31.
3. Paksy K, Varga B, Horvath E, Tatrai R, Ungvary G. Acute effects of cadmium on preovulatory serum FSH, LH and prolactin levels and on ovulation and ovarian hormone secretion in oestrus rats. *Reprod Toxicol* 1989; 3: 241-7.
4. Wier PJ, Miller RK, Maulik D, Di Sant'Agnese PA. Toxicity of cadmium in the perfused human placenta. *Toxicol Appl Pharmacol* 1990; 105: 156-71.
5. Olabarieta I, L'Azou B, Yuric S, Cambar J, Cajaraville MP. In vitro effects of cadmium on two different animal cell models. *Toxicol In Vitro* 2001; 15(4-5): 511-7.
6. Yang JL, Chao JI, Lin JG. Reactive oxygen species may participate in the mutagenicity and mutational spectrum of cadmium in the chinese hamster ovary-K1 cells. *Chem Res Toxicol* 1996; 9: 1360-7.

7. Koizumi T, Li ZG. Role of oxidative stress in single dose cadmium induced testicular cancer. *J Toxicol Environ Health* 1992; 37: 25-36.
8. Zalups RK, Ahmad S. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003; 186(3): 163-88.
9. Fabisiak JP, Tyurin VA, Tyurina YY, et al. Redox regulation of copper-metallothionein. *Arch Biochem Biophys*. 1999; 363(1): 171-81.
10. Jacop ST, Ghoshal K, Sheridan JF. Induction of metallothionein by stress and its molecular mechanisms. *Gene Expr* 1999; 7(4-6): 301-10.
11. Zeng X, Jin T, Zhou Y, Nordberg GF. Changes of serum sex hormone levels and MT mRNA expression in rats orally exposed to cadmium. *Toxicology* 2003; 186(1-2): 109-18.
12. Ren XY, Zhou Y, Zhang JP, Feng WH, Jiao BH. Metallothionein gene expression under different time in testicular Sertoli and spermatogenic cells of rats treated with cadmium. *Reprod Toxicol* 2003; 17(2): 219-27.
13. Favino A, Baillie AH, Griffiths K. Androgen synthesis by the testes and adrenal glands of rats poisoned with cadmium chloride. *J Endocrinol* 1996; 35: 185-92.
14. Laskey JW, Rhenberg GL, Laws SC, Hein JF. Reproductive effects of low acute doses of cadmium chloride in adult male rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1984; 73: 250-5.
15. Hew KW, Heath GL, Jiwa AH, Welsh NJ. Cadmium in vivo causes disruption of tight junction-associated microfilaments in rat Sertoli cells. *Biol Reprod* 1993; 49: 840-9.
16. Gouveia MA. The testes in cadmium intoxication: Morphological and vascular aspects. *Andrologia* 1988; 20(3): 225-31.
17. Boscolo P, Sacchettoni-Logroscino G, Ranelletti FO, Gioia A, Carmignani M. Effects of long term cadmium exposure on the testis of rabbits: Ultrastructural study. *Toxicol Lett* 1985; 24(2-3): 145-9.
18. Foote RH. Fertility of rabbit sperm exposed in vitro to cadmium and lead. *Reprod Toxicol* 1999; 13(6): 443-9.

19. Sayđı S, Deniz G, Kutsal O, Vural N. Chronic effects of cadmium on kidney, liver, testis and fertility of male rats. Biol Trace Elem

Res 1991; 31(3): 209-14.