

# Ocena korelacji stężenia metali toksycznych – kadmu i ołowiu – ze stężeniem hormonów steroidowych w homogenacie tkanki jajnikowej kobiet po menopauzie

*The assessment of the correlation between the levels of toxic metals, cadmium and lead, and the concentration of steroid hormones in ovarian tissue homogenates obtained from postmenopausal women*

Agnieszka Brodowska<sup>1</sup>, Jacek Brodowski<sup>2</sup>, Beata Karakiewicz<sup>3</sup>, Andrzej Starczewski<sup>1</sup>, Maria Laszczyńska<sup>4</sup>, Anna Sałacka<sup>5</sup>, Jolanta Kulig<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika Rozrodczości i Ginekologii, Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie; kierownik Kliniki: dr hab. med., prof. PAM Andrzej Starczewski

<sup>2</sup>Samodzielna Pracownia Podstawowej Opieki Zdrowotnej, Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie; kierownik Pracowni: dr med. Jacek Brodowski

<sup>3</sup>Zakład Zdrowia Publicznego, Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie, kierownik Zakładu: dr hab. med., prof. PAM Beata Karakiewicz

<sup>4</sup>Samodzielna Pracownia Histologii i Biologii Rozwoju; Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie; kierownik Pracowni: dr hab. med., prof. PAM Maria Laszczyńska

<sup>5</sup>Zakład Medycyny Rodzinnej, Pomorska Akademia Medyczna w Szczecinie; kierownik Zakładu: dr med. Anna Sałacka

Przegląd Menopauzalny 2009; 3: 155–160

## Streszczenie

**Wstęp:** Czynniki środowiskowe znacząco wpływają na termin wystąpienia menopauzy. Celem pracy była ocena korelacji pomiędzy poziomem kadmu (Cd) i ołowiu (Pb) a stężeniem estradiolu, testosteronu i androstendionu w homogenatach jajników w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki.

**Materiał i metody:** Do badania zakwalifikowano 39 kobiet po menopauzie, niestosujących terapii hormonalnej, którym usunięto jajniki podczas elektywnego zabiegu chirurgicznego. Analizowano dwie grupy kobiet: u 20 od ostatniej miesiączki nie upłynęło 5 lat (grupa A), a u 19 czas ten wynosił powyżej 5 lat (grupa B). W homogenacie tkanki jajnikowej oznaczono stężenia Cd i Pb metodą spektroskopii emisyjnej oraz stężenia estradiolu (E<sub>2</sub>), testosteronu (T) i androstendionu z użyciem metody ELISA.

**Wyniki:** Średnie stężenie ołowiu w homogenatach jajnika kobiet wynosiło 9,85 ± 4,2 µg/kg, a kadmu 3,52 ± 1,7 µg/kg. Wykazano istotną, dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Cd w homogenacie jajnika a wiekiem badanych kobiet ( $r_s = 0,37$ ). Nie wykazano różnic w zakresie stężenia kadmu i ołowiu w homogenatach jajników w zależności od czasu, który upłynął od ostatniej miesiączki (grupa A vs grupa B). Średnie stężenie E<sub>2</sub> w homogenacie wynosiło 31,84 ± 12,5 pg/mg białka, testosteronu 0,21 pg/mg białka, a androstendionu 0,56 pg/mg białka. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem Pb i Cd a stężeniem analizowanych hormonów steroidowych w homogenacie tkanki jajnikowej, wykazano natomiast istotnie większe stężenia E<sub>2</sub> i androstendionu w homogenacie tkanki jajnikowej u kobiet w grupie A.

**Wnioski:** Brak istotnych różnic w stężeniach Cd i Pb w homogenatach jajników w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki, a przede wszystkim brak istotnych korelacji pomiędzy Cd i Pb a analizowanymi hormonami steroidowymi mogą świadczyć o braku wpływu tych metali na czas wystąpienia ostatniej miesiączki.

**Słowa kluczowe:** kadm, ołów, hormony steroidowe, menopauza

## Summary

**Introduction:** Environmental factors have an essential impact on the time of menopause. The aim of this study was to assess the correlation between the levels of cadmium (Cd) and lead (Pb) and the concentrations of oestradiol, testosterone and androstenedione in ovarian homogenates depending on the time from the last menstrual bleeding (LM).

**Material and methods:** The study involved 39 postmenopausal women who had not used substitutive hormone therapy before, and whose ovaries had been removed during elective surgery. Two groups of women

Adres do korespondencji:

dr med. **Agnieszka Brodowska**, Klinika Rozrodczości i Ginekologii, PAM, ul Siedlecka 2, 72-010 Police, tel./faks +48 91 425 69 60, e-mail: fampiel@sci.pam.szczecin.pl

were analyzed, namely group A composed of 20 women being no more than 5 years after LM, and group B consisting of 19 women more than 5 years after their last menstrual period. The levels of cadmium and lead in ovarian homogenates were measured using emission spectrometry, while the concentrations of oestradiol ( $E_2$ ), testosterone (T) and androstenedione (A) were determined by ELISA method.

**Results:** The mean lead concentration in ovarian homogenates was  $9.85 \pm 4.2 \mu\text{g/kg}$ , and the mean level of cadmium  $3.52 \pm 1.7 \mu\text{g/kg}$ . A significant positive correlation was found between the level of cadmium in ovarian homogenates and the age of the women examined ( $r_s = 0.37$ ). No differences were found in the concentrations of cadmium and lead in ovarian homogenates depending on the time elapsed from the last menstruation (group A vs. group B). The mean  $E_2$  concentration in homogenates was  $31.84 \pm 12.5 \text{ pg/mg protein}$ , testosterone  $0.21 \text{ pg/mg protein}$ , and androstenedione  $0.56 \text{ pg/mg protein}$ . No correlation was found between the levels of Pb and Cd and the concentrations of the tested steroid hormones in ovarian homogenates. However, significantly higher levels of  $E_2$  and androstenedione were observed in ovarian homogenates obtained from group A women.

**Conclusions:** The lack of substantial differences in the concentrations of cadmium and lead in ovarian homogenates depending on the time elapsed from the last menstruation, and especially no significant correlations between Cd and Pb and the steroid hormones analyzed, may suggest that these elements have no influence on the time of the last menstrual bleeding.

**Key words:** cadmium, lead, steroid hormones, menopause

## Wstęp

Skażenie środowiska, będące istotnym czynnikiem wpływającym na stan zdrowia społeczeństwa, powstaje głównie na skutek szkodliwego wpływu metali toksycznych na jakość wody pitnej i pożywienia [1]. Negatywne oddziaływanie czynników środowiskowych na stan zdrowia człowieka ujawnia się najczęściej dopiero po wielu latach, ponieważ skumulowany efekt toksyczności działania małych dawek substancji toksycznych stwierdza się dopiero po dłuższym narażeniu na ich działanie [2].

Za szczególnie niebezpieczne dla zdrowia człowieka uważa się ołów (Pb) i kadm (Cd); zwłaszcza Pb jest silnie toksycznym pierwiastkiem o działaniu wielonarządowym. Powoduje on uszkodzenia o różnym stopniu nasilenia, od przejściowych zmian funkcjonalnych, aż po trwałe zmiany organiczne. Najważniejszymi drogami, przez które przenika Pb do organizmu ludzkiego, są układ pokarmowy, oddechowy oraz w znacznie mniejszym stopniu skóra [3, 4]. Ołów jest trucizną kumulującą się w organizmie. Czas jego półtrwania w tkankach miękkich wynosi ok. 30 dni, a w kościach 40–90 lat. Ołów w organizmie jest silnie wiązany przez związki o dużej liczbie cząsteczkowej, takie jak hemoglobina, enzymy, kwas rybonukleinowy (RNA) – w ten sposób może wywoływać zaburzenia licznych szlaków metabolicznych [5].

Kadm do ustroju dostaje się trzema drogami: pokarmową (ok. 80%), oddechową (ok. 20%) i kontaktową (ok. 1%) [4]. W przewodzie pokarmowym wchłanianie się ok. 10% pobranego z pożywieniem Cd. Jego absorpcja zależy od wielkości rezerw białkowych, obecności w diecie błonnika, kwasu askorbinowego oraz od zawartości takich biopierwiastków, jak magnez, wapń, cynk czy żelazo. Kadm indukuje przerywanie łańcuchów kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA) i liczne aberracje chromosomowe. Został on umieszczony na liście związków rakotwórczych. Do oceny narażenia na działanie Cd wykorzystuje się badanie stężenia tego pierwiastka we

krwi i w moczu. Stężenie we krwi pozwala na ocenę aktualnego narażenia na działanie tego metalu. Stężenie Cd we krwi nieprzekraczające  $0,52 \mu\text{g/l}$  przyjęto za wartość referencyjną dla mieszkańców Europy i Stanów Zjednoczonych [3, 4].

Opisane powyżej metale toksyczne są wymieniane również wśród czynników środowiskowych wpływających na czas wystąpienia ostatniej miesiączki u kobiet. Według danych demograficznych średni wiek menopauzy w Polsce wynosi 49 lat, w Wielkiej Brytanii 50,8 roku, a w Stanach Zjednoczonych 51,3 roku [6]. Wciąż zastanawia, dlaczego część kobiet w tym samym kraju przestaje miesiączkować w wieku ok. 45 lat, a inna grupa kobiet dopiero w wieku 55 lat lub powyżej przy braku różnic pomiędzy tymi pacjentkami w zakresie wskaźnika masy ciała, stosowanej diety, liczby przeżytych porodów, regularności cykli miesięczkowych, współistniejących chorób ogólnoustrojowych, rodzaju i ilości stosowanych używek, aktywności zawodowej, wykształcenia i statusu społecznego.

Dotychczasowa wiedza na temat budowy i funkcji jajnika kobiety po menopauzie pozwala na stwierdzenie, że w okresie poprzedzającym o kilka lat wystąpienie ostatniej miesiączki znacznie zmienia się struktura jajnika. W licznych pracach wykazano, że dochodzi przede wszystkim do zatarcia granicy między korą a rdzeniem, zmniejsza się grubość kory, pojawiają się nabłonkowe cysty inkluzyjne, dochodzi do redukcji liczby pęcherzyków jajnikowych, pojawia się tendencja do fragmentacji ciałek białawych oraz wpuklenia się nabłonka powierzchniowego. Zmiany budowy wiążą się ze zmianami w aktywności steroidogenezy jajnikowej, a głównie ze zmianami cykliczności i ilości produkowanych steroidów [7–9]. Po menopauzie ilości estradiolu i progesteronu produkowanego w jajniku są znacznie mniejsze niż w wieku rozrodczym – na tyle małe, że nie dochodzi do odbudowy endometrium i nie występuje miesiączka [7, 8].

Usunięcie jajników w tym okresie może jednak spowodować zmniejszenie produkcji testosteronu i androstendionu. Bankroft i wsp. oraz Plouffe podają, że chirurgiczne usunięcie jajników w okresie okołomenopauzalnym powoduje zmniejszenie stężenia zarówno estrogenów, jak i androgenów nawet o 50% [10, 11]. W badaniu *Rancho Bernardo* wykazano także, że w wieku 60–90 lat zmniejszenie stężenia androstendionu w surowicy u kobiet po menopauzie z zachowanymi jajnikami wynosiło 15%, a u kobiet bez jajników aż 27% w porównaniu ze stężeniami w wieku rozrodczym [12]. Androstendion i testosteron są hormonami bardzo ważnymi do prawidłowego funkcjonowania organizmu kobiet, dlatego też zmniejszenie ich produkcji przez jajnik powoduje wystąpienie różnych niekorzystnych objawów klinicznych, takich jak obniżony nastrój i aktywność fizyczna, zmniejszenie libido, zmniejszenie gęstości tkanki kostnej [10].

Wykazano ponadto, że po menopauzie głównymi czynnikami hormonalnie komórkami jajnika są komórki zrębu [10]. W komórkach tych potwierdzono obecność receptorów błonowych dla FSH (folistymuliny) i LH (lutropiny) oraz aktywność kluczowego enzymu steroidogenezy aromatazy P-450, a także wykazano obecność receptorów hormonów steroidowych: receptora androgenowego, progesteronowego oraz receptora estrogenowego  $\alpha$  [8, 14–16].

Zdaniem autorów niniejszego opracowania wyjaśnienie problemu zróżnicowania wiekowego menopauzy u kobiet w Polsce wymaga – oprócz wielu badań genetycznych i molekularnych – przeprowadzenia również szczegółowych badań dotyczących wpływu czynników środowiskowych na czas wystąpienia ostatniej miesiączki, a zwłaszcza zbadania wpływu metali toksycznych na aktywność steroidogenezy jajnikowej.

## Cel pracy

Celem pracy była ocena zawartości Cd i Pb w homogenatach jajników u kobiet po menopauzie oraz ocena korelacji pomiędzy stężeniem ww. metali ciężkich a stężeniem wybranych hormonów steroidowych: estradiolu, testosteronu i androstendionu w homogenatach jajników w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki.

## Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano 39 kobiet po menopauzie, niestosujących terapii hormonalnej, którym usunięto jajniki podczas elektywnego zabiegu chirurgicznego wykonanego z powodu mięśniaków macicy lub endometriozy i/lub obniżenia narządu rodowego. Badane kobiety nie pracowały nigdy w warunkach zwiększonego narażenia na Cd i Pb, nie paliły papierosów, przed meno-

pauzą miesiączkowały regularnie, przebyły 1–3 porodów. Średni wiek kobiet wynosił 59 lat (48–68 lat). Analizowane kobiety podzielono na 2 grupy w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki. Grupa A liczyła 20 kobiet, u których nie upłynęło 5 lat od ostatniej miesiączki, natomiast grupę B stanowiło 19 kobiet, u których minęło ponad 5 lat od menopauzy. Wszystkie pacjentki zakwalifikowane do badania były hospitalizowane w Klinice Rozrodczości i Ginekologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie na wykonanie powyższych badań.

## Protokół homogenizacji tkanki jajnika

Zamrożone fragmenty jajników umieszczono w pojemniku termobox ( $-21^{\circ}\text{C}$ ). Mały fragment tkanki umieszczano w metalowym homogenizatorze i polewano 2–3 razy ciekłym azotem, po czym rozdrabniano, kilkakrotnie uderzając młotkiem w metalowy trzpień. Sproszkowaną, zmrożoną tkankę jajnika (w ilości odpowiadającej kilku mg białka) umieszczano w probówce zawierającej 500  $\mu\text{l}$  0,9-procentowego NaCl. Po krótkim zwortekowaniu wykonywano homogenizację za pomocą homogenizatora nożowego przez ok. 15 s. Otrzymany homogenat odwirowano przy 14 000 g ( $4^{\circ}\text{C}$ ), a otrzymany supernatant przeznaczono do wykonania oznaczenia hormonów płciowych. Ocenę stężenia estradiolu ( $E_2$ ), androstendionu (A) oraz testosteronu (T) wykonano z użyciem metody ELISA (Spi-Bio France). Stężenie analizowanych hormonów podano w pg/mg białka.

Zawartość Cd i Pb analizowano metodą spektrometrii emisyjnej przy użyciu aparatu Optima 2000 DV firmy Perkin Elmer. Próbkę do oznaczeń mineralizowano „na mokro” (65-procentowym  $\text{HNO}_3$ ) w wysokociśnieniowym, mikrofalowym systemie do mineralizacji. Jako standardu używano certyfikowanego wzorca wielopierwiastkowego firmy Marck „CP Multielement Standard IV. W celu zminimalizowania potencjalnie występujących zakłóceń ebulizacji i innych zaburzeń typu fizycznego w plazmie argonowej, analizy Pb i Cd wykonywano z użyciem tzw. wzorca wewnętrznego, przez wprowadzenie itru do roztworów próbek. Oznaczenia Pb i Cd wykonywano przez bezpośrednie wprowadzanie mineralizatu do plazmy. Wszystkie pomiary intensywności emitowanego promieniowania wykonywano przy wyborze dłuższej, aksjalnej drogi optycznej w spektrofotometrze. Stężenie kadmu i ołowiu w tkance jajnikowej podano w  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Obliczenia statystyczne przeprowadzono z użyciem programu Statistica for Windows PL. Charakterystykę zmiennych ilościowych przeprowadzono, oceniając wartość minimalną i maksymalną, średnią, medianę i odchylenie standardowe. Charakter rozkładu badanych cech ilościowych oceniono testem Shapiro-Wilka. Do

oceny istotności różnic, z uwagi na brak rozkładu normalnego, zastosowano nieparametryczny test Manna-Whitneya. Ocenę współzależności między badanymi zmiennymi przeprowadzono w oparciu o współczynnik korelacji rang Spearmana ( $r_s$ ). Za znamienne statystycznie przyjęto poziom istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki

Stężenie badanych metali toksycznych w homogenatach tkanki jajników u kobiet po menopauzie przedstawiono w tabeli I. Wykazano istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kadmu w homogenacie jajnika a wiekiem badanych kobiet ( $r_s = 0,37$ ). Nie wykazano takiej zależności w odniesieniu do ołowiu. Wykazano wysoce istotną statystycznie ( $p < 0,001$ ), dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Pb i Cd ( $r_s = 0,62$ ) w homogenacie tkanki jajnikowej. W analizowanych grupach kobiet (A i B) nie wykazano istotnych różnic w zakresie stężenia metali ciężkich (Cd i Pb) w homogenatach jajników w zależności od czasu, który upłynął od ostatniej miesiączki (tab. II).

Stężenie wybranych hormonów steroidowych w homogenacie tkanki jajnikowej przedstawiono w tabeli I. W całej badanej grupie, jak również w podgrupach A i B nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem Pb i Cd a stężeniem analizowanych hormonów steroidowych w homogenacie tkanki jajnikowej. Analizując stężenie hormonów w podgrupie A i B, wykazano istotne różnice w zakresie stężenia estradiolu i androstendionu; stężenie  $E_2$  i A było istotnie większe u kobiet badanych do 5 lat od menopauzy. Nie zaobserwowano takiej zależności w odniesieniu do stężenia testosteronu (tab. II).

## Omówienie wyników

Skażenie środowiska, a szczególnie obecność metali ciężkich w wodzie pitnej i w pożywieniu oraz ich wpływ na zdrowie kobiet, jest tematem często poruszonym w piśmiennictwie. Istnieje wiele opracowań dotyczących stężenia Cd i Pb w tkankach u kobiet w wieku rozrodczym oraz w surowicy kobiet w wieku pomenopauzalnym, natomiast niewiele jest doniesień na temat stęże-

**Tab. I.** Stężenie ołowiu (Pb) i kadmu (Cd) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] oraz estradiolu ( $E_2$ ), androstendionu (A) i testosteronu (T) [ $\text{pg}/\text{mg}$  białka] w homogenatach jajników kobiet w wieku pomenopauzalnym

	<i>n</i>	Minimum- maksimum	$\bar{x} \pm \text{SD}$	Mediana
Pb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	39	4,69–18,62	9,85 $\pm$ 4,18	8,61
Cd [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	39	1,88–6,64	3,52 $\pm$ 1,36	3,28
$E_2$ [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	39	12,2–65,1	31,8 $\pm$ 12,5	28,8
A [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	39	0,26–0,92	0,56 $\pm$ 0,17	0,56
T [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	39	0,09–0,36	0,21 $\pm$ 0,06	0,18

*n* = liczba pacjentów; minimum-maksimum = zakres,  $\bar{x} \pm \text{SD}$  = średnia i odchylenie standardowe

**Tab. II.** Stężenie ołowiu (Pb) i kadmu (Cd) [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] oraz estradiolu ( $E_2$ ), androstendionu (A) i testosteronu (T) [ $\text{pg}/\text{mg}$  białka] w homogenatach jajników u kobiet w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki

	Grupa	Minimum-maksimum	$\bar{x} \pm \text{SD}$	<i>p</i>
Pb [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	grupa A, <i>n</i> = 20	4,69–16,57	9,78 $\pm$ 3,9	NS
	grupa B, <i>n</i> = 19	4,7–18,62	9,92 $\pm$ 4,56	
Cd [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	grupa A, <i>n</i> = 20	1,82–6,64	3,3 $\pm$ 1,45	NS
	grupa B, <i>n</i> = 19	2,0–6,45	3,76 $\pm$ 1,26	
$E_2$ [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	grupa A, <i>n</i> = 20	33,1–65,1	40,77 $\pm$ 10,81	0,0001
	grupa B, <i>n</i> = 19	12,2–43,5	22,43 $\pm$ 5,18	
A [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	grupa A, <i>n</i> = 20	0,56–0,92	0,64 $\pm$ 0,13	0,005
	grupa B, <i>n</i> = 19	0,26–0,62	0,49 $\pm$ 0,18	
T [ $\text{pg}/\text{mg}$ białka]	grupa A, <i>n</i> = 20	0,14–0,36	0,21 $\pm$ 0,074	NS
	grupa B, <i>n</i> = 19	0,09–0,25	0,19 $\pm$ 0,058	

*n* = liczba pacjentów, minimum-maksimum = zakres,  $\bar{x} \pm \text{SD}$  = średnia i odchylenie standardowe; *p* = poziom istotności statystycznej, NS = nieistotne statystycznie

nia Cd i Pb w tkankach kobiet po menopauzie [17]. Jak wynika z analizy piśmiennictwa, Cd i Pb kumulują się u człowieka w wielu tkankach. U kobiet w wieku rozrodczym najwięcej Cd i Pb gromadzi się w kościach, zębach, nerkach, wątrobie oraz w narządach rozrodczych, głównie w macicy i jajnikach [18–20]. Im dłużej trwa ekspozycja kobiet na Pb i Cd, tym ich stężenia w wymienionych tkankach są większe i wielokrotnie przewyższają stężenia tych pierwiastków w surowicy [18, 21]. Ponadto wykazano dodatnią korelację pomiędzy wiekiem kobiet miesiączkujących a stężeniem Pb i Cd w zębach i w jajnikach [17, 18]. Duże stężenie tych pierwiastków zarówno w tkankach, jak i w surowicy jest szkodliwe dla człowieka. Z drugiej strony z dotychczasowego piśmiennictwa wynika także, że śladowe stężenia Cd i Pb w surowicy są niezbędne do prawidłowego przebiegu steroidogenezy i to zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn [20, 22–24]. Metale te są jednymi z aktywatorów kluczowych enzymów steroidogenezy, m.in. aromatazy P-450 scc. U kobiet są pierwiastkami warunkującymi prawidłowe wytwarzanie progesteronu w jajnikach, a tym samym modyfikują dojrzewanie płciowe dziewcząt i regularne miesiączkowanie [21, 24–26].

W pracy zbadano homogenaty jajników 39 kobiet po menopauzie pomiędzy 48. a 68. rokiem życia. Stężenie Pb mieściło się w zakresie 4,69–18,62 µg/kg, a Cd 1,88–6,64 µg/kg. W badaniach Vargi i wsp. dotyczących 98 kobiet w wieku 16–76 lat, maksymalne stężenie Cd w skrawkach jajnikowych wynosiło aż 240 µg/kg [17]. Trudno jednak jednoznacznie porównywać wyniki badań uzyskane przez autorów niniejszego opracowania z wynikami Vargi i wsp., gdyż analizowano kobiety w innym przedziale wiekowym i zamieszkujące różne środowiska.

Średnie stężenie estradiolu w homogenacie jajnika badanych pacjentek wynosiło 31,84 pg/mg białka, testosteronu 0,21 pg/mg białka, a androstendionu 0,56 pg/mg białka. Wyniki badań uzyskane przez autorów opracowania dotyczących stężeń hormonów steroidowych w homogenacie tkanki jajnikowej są trudne do jednoznacznej interpretacji, ze względu na brak odpowiedniego piśmiennictwa.

Badane pacjentki nie pracowały w warunkach zwiększonego narażenia na metale toksyczne. Przy przewlekłej ekspozycji kobiet na Cd, Pb może dochodzić do uszkodzenia pęcherzyków pierwotnych w jajnikach, co prowadzi do zaburzeń miesiączkowania, zaburzeń funkcjonowania osi podwzgórze–przysadka–jajnik, a ostatecznie do przedwczesnego wygaśnięcia czynności jajników, czyli wcześniejszej menopauzy [25, 27]. Coraz więcej kobiet ma wcześniejszą menopauzę. Według ostatnich danych z 2006 r. przedwczesne wygaśnięcie czynności jajnika (*premature ovarian failure* – POF) dotyczy aż 1% kobiet przed 40. rokiem życia, 0,1% kobiet przed 30. rokiem życia i 0,01% kobiet poniżej 20. roku życia. [25]. Długie narażenie na Cd lub Pb może prowadzić do niepłodności kobiet, w mechanizmie uszkodzenia

oocytów lub embrionów oraz na drodze zaburzeń steroidogenezy w komórkach ziarnistych jajnika [22, 28, 29]. W licznych badaniach udowodniono, że u nierodek stężenia Cd i Pb są istotnie większe [27, 30], natomiast u wielorodek (analizowano dane dotyczące kobiet, które rodziły przynajmniej 2 razy) istotnie mniejsze [31, 32]. W badanej przez autorów opracowania grupie kobiet problem niepłodności nie występował, pacjentki w wieku rozrodczym miesiączkowały regularnie, rodziły 1–3 razy.

Jak zaznaczono powyżej, Cd i Pb mogą być pierwiastkami toksycznymi o działaniu wielonarządowym. Vahter i wsp. opisali przypadki choroby itai-itai charakteryzującej się osteoporozą, osteomalacją i uszkodzeniem nerek wśród kobiet spożywających ryż skażony Cd [33]. Z kolei Nagata i wsp. wykazali, że zwiększona ekspozycja kobiet na Cd skorelowana jest ze zwiększonym stężeniem testosteronu w surowicy, a tym samym ze zwiększonym ryzykiem raka sutka [34]. Tok i wsp. donoszą o prawdopodobnym udziale Pb w powstawaniu raka nabłonkowego jajnika [35]. W badaniach własnych nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem Cd i Pb a stężeniem testosteronu w homogenacie tkanki jajnikowej.

Analizowane przez autorów opracowania pacjentki poddane były badaniom w różnym okresie od ostatniej miesiączki. U 20 pacjentek czas ten nie przekraczał 5 lat (grupa A), a u 19 trwał powyżej 5 lat (grupa B). Nie wykazano istotnych różnic w zakresie stężenia Pb i Cd pomiędzy analizowanymi grupami, jednocześnie nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy stężeniem tych metali a stężeniem estradiolu w homogenacie tkanki jajnikowej.

Na podstawie literatury wiadomo, że u kobiet po menopauzie stężenie Cd i Pb w surowicy zaczyna się zwiększać. Dzieje się tak na skutek zmniejszania się stężenia estrogenów w organizmie, czego konsekwencją jest zmniejszenie gęstości tkanki kostnej i wyptukiwanie różnych pierwiastków z kośćca. Wykazano, że aż w 90% na stężenie Pb w surowicy krwi kobiet po menopauzie ma wpływ ołów wyptukiwany z kośćca [27, 30, 32, 36]. Według niektórych autorów stężenia Pb w surowicy kobiet po menopauzie jest najwyższe wkrótce po wystąpieniu ostatniej miesiączki (do 4 lat od menopauzy, 47.–50. roku życia) [30], a wg innych jest najwyższe u kobiet dopiero po 60. roku życia [32, 37]. Varga i wsp. analizowali stężenie kadmu w homogenacie tkanki jajnikowej w zależności od wieku badanych kobiet. W grupie poniżej 30 lat nie wykazano korelacji, w grupie pomiędzy 30. a 65. rokiem życia występowała liniowa korelacja wzrostowa, natomiast po 65. roku życia stężenie Cd w jajnikach wykazywało tendencję spadkową [17]. Podobnie w badaniach autorów niniejszego opracowania w grupie pomiędzy 48. a 68. rokiem życia wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem Cd w homogenacie jajnika a wiekiem badanych kobiet.

Podsumowując, należy stwierdzić, że w analizowanej grupie kobiet czas, który upłynął od menopauzy, nie wpływa na stężenia Cd i Pb w jajnikach tych kobiet. Zaobserwowano zależność od wieku kobiet, ale istotna korelacja wystąpiła tylko w przypadku Cd. Analizując stężenie hormonów steroidowych, wykazano, zgodnie z oczekiwaniami, większe stężenie estradiolu i androstendionu w grupie kobiet młodszych, czyli w grupie A. Czas, który upłynął od ostatniej miesiączki, nie wpływa istotnie na stężenie testosteronu w homogenacie jajnikowym. Autorzy sugerują ponadto, że brak istotnych różnic w stężeniach wymienionych metali w homogenatach jajników wśród przebadanych kobiet, a przede wszystkim brak istotnych korelacji pomiędzy Cd i Pb a analizowanymi hormonami steroidowymi, może świadczyć o braku wpływu tych pierwiastków na czas wystąpienia ostatniej miesiączki. Problem ten wymaga przeprowadzenia dalszych badań na większej grupie pacjentek.

## Wnioski

1. Nie wykazano istotnych różnic w zakresie stężenia kadmu i ołowiu w homogenacie tkanki jajnikowej w zależności od czasu, jaki upłynął od ostatniej miesiączki.
2. W homogenacie tkanki jajnikowej kobiet po menopauzie nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem analizowanych metali toksycznych a stężeniem estradiolu, androstendionu i testosteronu.
3. Otrzymane wyniki badań mogą świadczyć o braku wpływu Cd i Pb na czas wystąpienia ostatniej miesiączki.

## Piśmiennictwo

1. Bellinger D, Leviton A, Allred E, Rabinowitz M. Pre- and postnatal lead exposure and behavior problems in school – aged children. *Environ Res* 1994; 66: 12-30.
2. Vahter M, Akesson A, Lidén C, et al. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ Res* 2007; 104: 85-95.
3. Dobrzańska B, Moniuszko-Jakoniuk J. Ocena narażenia ludności na wybrane metale ciężkie. *Pol Tyg Lek* 1991; 46: 443-7.
4. Chmielnicka J. Toksyczność metali i półmetali. W: Toksykologia współczesna. Seńczuk W (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2006; 301-53.
5. Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, et al. Lead toxicity update. A brief review. *Med Sci Monit* 2005; 11: RA329-36.
6. Kaczmarek M. Intra-population age variation at natural menopause and underlying past reproductive events: a case of Polish women. *Acta Med Lituanica* 2005; 12: 15-21.
7. Laszczyńska M, Brodowska A, Starczewski A, et al. Human postmenopausal ovary – hormonally inactive fibrous connective tissue or more? *Histol Histopathol* 2008; 23: 219-26.
8. Brodowska A, Laszczyńska M, Starczewski A, et al. The localization of estrogen receptor  $\alpha$  and its function in the ovaries of postmenopausal women. *Folia Histochem Cytobiol* 2007; 4: 325-30.
9. Focchi GR, Simões Mde J, Baracat EC, et al. Ultrastructural aspects of the remodeling process of the corpus albicans in the recent postmenopausal period. *Sao Paulo Med J* 1996; 114: 1173-76.
10. Plouffe L Jr. Ovaries androgens and the menopause: practical applications. *Semin Reprod Endocrinol* 1998; 16: 117-20.
11. Bancroft J, Cawood EH. Androgens and the menopause: a study of 40-60 year-old women. *Clin Endocrinol* 1996; 45: 577-87.
12. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Kritz-Silverstein D, von Mühlen D. Hysterectomy, oophrectomy, and endogenous sex hormone levels in older women: The Rancho Bernardo Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 645-51.
13. Lobo RA. Androgens in postmenopausal women: production, possible role, and replacement options. *Obstetric Gynecol Survey* 2001; 56: 361-76.
14. Zofková I, Zajicková K, Hill M. The estrogen receptor alpha gene determines serum androstendion levels in postmenopausal women. *Steroids* 2002; 67: 815-9.
15. Meza-Muñoz DE, Fajardo ME, Pérez-Luque EL, Malacara JM. Factors associated with estrogen receptors-alpha (ER-alpha) and -beta (ER-beta) and progesterone receptor abundance in obese and non obese pre- and postmenopausal women. *Steroids* 2006; 6: 498-503.
16. Inkster SE, Brodie AM. Expression of aromatase cytochrome P-450 in premenopausal and postmenopausal human ovaries: an immunocytochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 717-26.
17. Varga B, Zsolnai B, Paksy K, et al. Age dependent accumulation of cadmium in the human ovary. *Reprod Toxicol* 1993; 7: 225-8.
18. Bercovitz K, Laufer D. Age and gender influence on lead accumulation in root dentine of human permanent teeth. *Arch Oral Biol* 1991; 36: 671-3.
19. Bires J, Maracek I, Bartko P, et al. Accumulation of trace elements in sheep and the effects upon qualitative and quantitative ovarian changes. *Vet Hum Toxicol* 1995; 37: 349-56.
20. Taupeau C, Poupon J, Nomé F, Lefèvre B. Lead accumulation in the mouse ovary after treatment-induced follicular atresia. *Reprod Toxicol* 2001; 15: 385-91.
21. Popovic M, McNeill FE, Chettle DR, et al. Impact of occupational exposure on lead levels in women. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 478-84.
22. Piasek M, Kostial K, Laskey JW. Experimental studies on reproductive and perinatal effects of lead and cadmium. *Environ Mgmt Health* 1996; 7: 29-35.
23. Paksy K, Rajczy K, Forgács Z, et al. Effect of cadmium on morphology and steroidogenesis of cultured human ovarian granulosa cells. *J Appl Toxicol* 1997; 17: 321-7.
24. Henson MC, Chedrese PJ. Endocrine disruption by cadmium a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol Med* 2004; 229: 383-92.
25. Beck-Peccoz P, Persani L. Premature ovarian failure. *Orphanet J Rare Dis* 2006; 6: 9.
26. Nampoothiri LP, Agarwal A, Gupta S. Effect of co-exposure to lead cadmium on antioxidant status in rat ovarian granulosa cells. *Arch Toxicol* 2007; 81: 145-50.
27. Silbergeld EK, Flaws JA. Chemicals and menopause: effects on age at menopause and on health status in the postmenopausal period. *J Womens Health* 1999; 8: 227-34.
28. Sharara FI, Seifer DB, Flaws JA. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil Steril* 1998; 70: 613-22.
29. Nampoothiri LP, Gupta S. Simultaneous effect of lead and cadmium on granulosa cells: a cellular model for ovarian toxicity. *Reprod Toxicol* 2006; 21: 179-85.
30. Symanski E, Hertz-Picciotto I. Blood lead levels in relation to menopause, smoking, and pregnancy history. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 1047-58.
31. Roberts JS, Silbergeld EK. Pregnancy, lactation, and menopause: how physiology and gender affect the toxicity of chemicals. *Mt Sinai J Med* 1995; 62: 343-55.
32. Potula V, Kaye W. The impact of menopause and lifestyle factors on blond and bone lead levels among female farmer smelter workers: the Bunker Hill Study. *Am J Ind Med* 2006; 49: 143-52.
33. Vahter M, Berglund M, Akesson A, Lidén C. Metals and women's health. *Environ Res* 2002; 88: 145-55.
34. Nagata C, Nagao Y, Shibuya C, et al. Urinary cadmium and serum levels of estrogens and androgens in postmenopausal Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 705-8.
35. Tok EC, Ertunc D, Tataroglu C, et al. Clinicopathologic study of the putative precursor lesions of epithelial ovarian cancer in low-risk women. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 501-6.
36. McElroy JA, Shafer MM, Hampton JM, Newcomb PA. Predictors of urinary cadmium levels in adult females. *Sci Total Environ* 2007; 382: 214-23.
37. Vahter M, Berglund M, Akesson A. Toxic metals and the menopause. *J Br Menopause Soc* 2004; 10: 60-4.