

Znaczenie kadmu, selenu, cynku i miedzi w rozwoju nowotworów gruczołu krokowego

Adam Daragó, Jadwiga Chmielnicka

Nowotwory gruczołu krokowego stanowią jedną z najczęstszych przyczyn zgonów u mężczyzn w licznych krajach. Z ostatnich doniesień w zakresie badań eksperymentalnych, a także środowiskowych i zawodowych, nie można wykluczyć, że przyczynę powstawania różnych rodzajów nowotworów może stanowić narażenie na kadm. Metal ten został zakwalifikowany przez Międzynarodową Agencję do Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 1. Przedstawiony artykuł zawiera informacje z badań eksperymentalnych i epidemiologicznych, dotyczących toksycznego działania, a także roli kadmu w kancerogenezie gruczołu krokowego. W mechanizmie powstawania nowotworów stercza podkreślone zostało działanie kadmu na zaburzenie metabolizmu pierwiastków niezbędnych w ustroju człowieka, ze szczególnym uwzględnieniem cynku i selenu. Opierając się na tych doniesieniach można wnioskować, że podwyższony poziom cynku w tkankach gruczołu krokowego zapobiega powstawaniu komórek nowotworowych. W przedstawionym artykule zostały zaprezentowane przykłady prewencyjnego działania związków selenu, dotyczące wywołania apoptozy w komórkach nowotworowych. Przytoczone dane licznych autorów popierają hipotezę, że suplementacja selenem powoduje obniżenie ryzyka powstawania nowotworu gruczołu krokowego. Przyszłe badania epidemiologiczne wymagają dalszych wyjaśnień dla ustalenia zależności między selenem, cynkiem, a kadmem w powstawaniu nowotworów gruczołu krokowego.

The significance of cadmium, selenium, zinc and copper in the development of prostate cancer

Prostate cancer is a common and, frequently, lethal malignancy. Occupational and environmental studies suggest the potential role of cadmium – a toxic metal of significant environmental and occupational concern – in the development of cancer. Recently the International Agency for Research of Cancer has stated cadmium as category 1. This review presents collected epidemiological and experimental data supporting the role of cadmium on prostate cancerogenesis. Epidemiological study findings maintain the role of selenium and zinc as elements essentially necessary for the prevention of prostate cancer. From them one may conclude that higher levels of zinc within the prostate tissue could be inversely related to prostate cancer risk. On the other hand adequate selenium doses cause the apoptosis of prostate cancer cells. Reports from several authors support the hypothesis that selenium supplementation may reduce the risk of prostate cancer. Further epidemiological studies are necessary in order to clarify the role of selenium and zinc in the etiology of prostate cancer.

Słowa kluczowe: nowotwory gruczołu krokowego, interakcje, kadm, selen, cynk, miedź

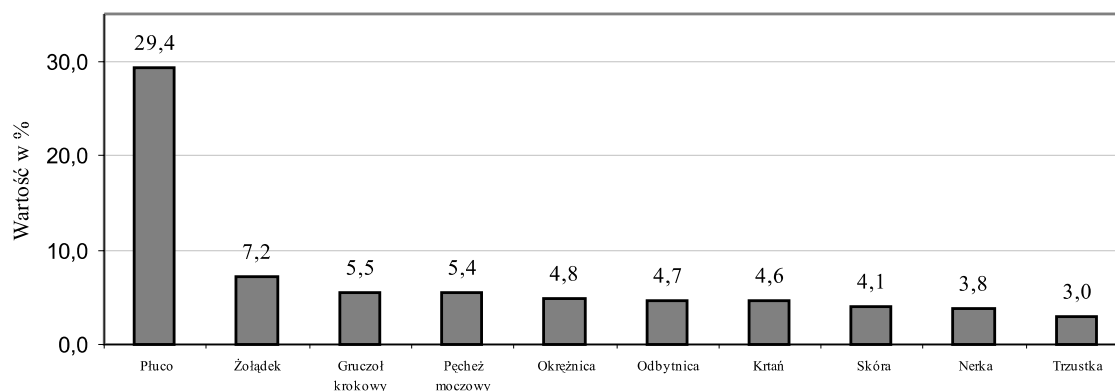
Key words: prostate cancer, interaction, cadmium, selenium, zinc, copper

Dane epidemiologiczne

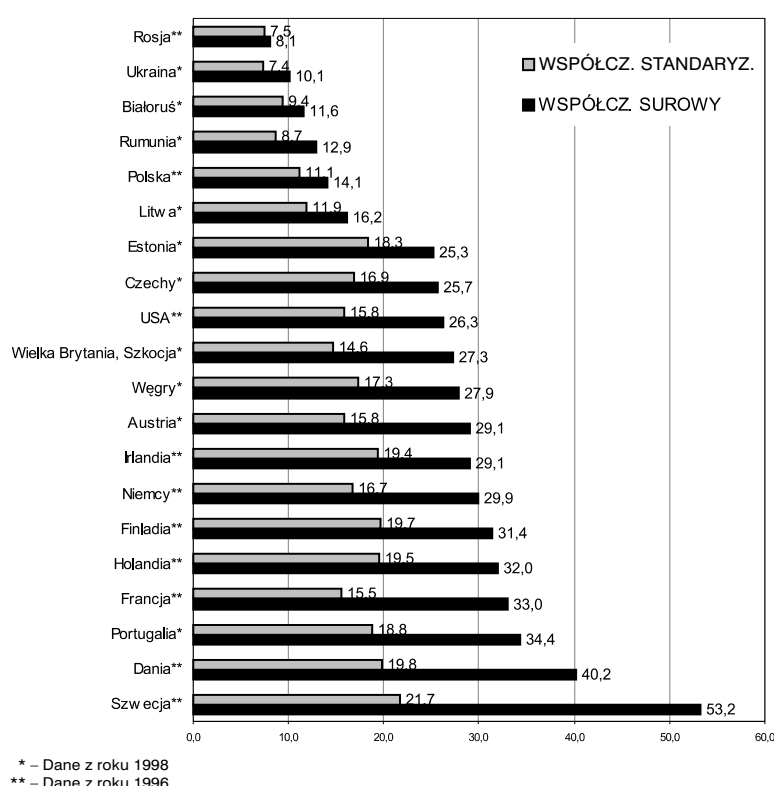
Zgodnie z najnowszymi danymi epidemiologicznymi nowotwory są w Polsce drugą pod względem częstotliwości przyczyną zgonów. Także nadal utrzymuje się stosunkowo duże tempo wzrostu zachorowalności w stosunku rocznym, wynoszące dla mężczyzn i kobiet odpowiednio: 1,96% i 0,55% [1]. Oznacza to, że średnio, co

czwarty Polak zachoruje na nowotwór w ciągu swojego życia.

Dane epidemiologiczne z lat 1993-1996 [1-4] dla nowotworów złośliwych w Polsce u mężczyzn przedstawiono na Rycinie 1. Dominującą rolę odgrywały nowotwory układu: oddechowego, pokarmowego oraz moczowo-płciowego (nowotwory gruczołu krokowego). Ilościowo, problem, jaki przedstawiają nowotwory, mierzy się za pomocą współczynników zachorowalności i umieralności. W przypadku braku tego rodzaju danych użyteczną informację może stanowić częstotliwość względna nowotworów występujących w różnych narządach w stosunku do wszystkich rozpoznanych nowotworów.



Ryc. 1. Struktura zachorowań na najczęstsze nowotwory złośliwe w Polsce u mężczyzn w 1996 r wg. Wronkowskiego i wsp. [1]
Figure 1. The structure of frequency of malignant cancer in men, Poland 1996, according to Wronkowski and oth [1]

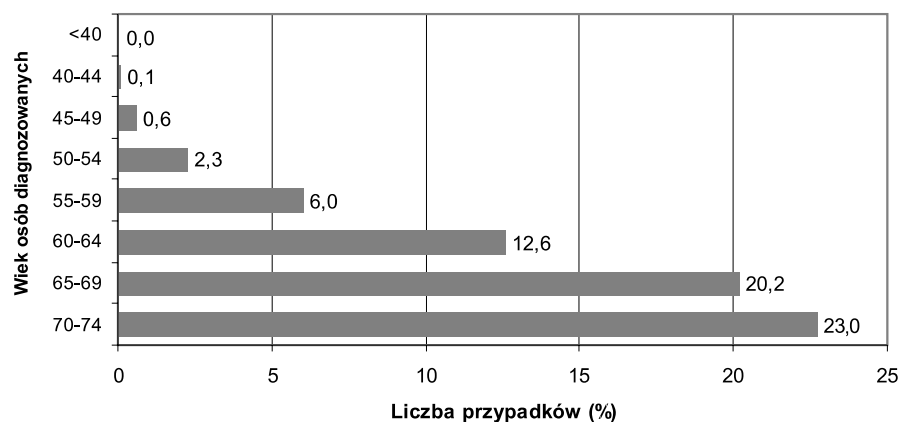


Ryc. 2. Umieralność z powodu nowotworów stercza w wybranych krajach w latach 1996 i 1998 wg WHO DATABANK 2001 [5]
Figure 2. Mortality in cases of prostate cancer in various countries, 1996 and 1998, according to WHO DATABANK 2001 [5]

Niewiele regionów świata dysponuje dobrymi danymi na temat zachorowalności na nowotwory i niewiele rejestrów nowotworowych istnieje dłużej niż 20 lat. Światowa Organizacja Zdrowia prowadzi bank danych o umieralności z powodu nowotworów i okresowo analizuje te dane [5]. Przedstawione na Rycinie 2 bardzo niskie dane liczbowe, dotyczące umieralności na nowotwory gruczołu krokowego w niektórych krajach w porównaniu z krajami bardziej rozwiniętymi gospodarczo, mogą wynikać z niekompletności danych epidemiologicznych.

Nowotwory gruczołu krokowego dotyczą głównie mężczyzn po 50 roku życia [6, 7], a częstotliwość występo-

wania tego schorzenia rośnie wraz z wiekiem (Rycina 3) i po 70 roku życia stanowią one jedną z najczęstszych przyczyn zgonów. Uwzględniając obecne tendencje w kierunku starzenia się populacji w krajach uprzemysłowionych, w tym i Polski, można przypuszczać, że problem ten w przyszłości będzie narastał. Dane epidemiologiczne wskazują, że 70-90% wszystkich przypadków chorób nowotworowych jest spowodowanych zanieczyszczeniem środowiska; nie można także wykluczyć występującej u pewnej liczby osób predyspozycji uwarunkowanej genetycznie. Styl życia, przez który rozumie się np. palenie tytoniu i sposób odżywiania, oraz specyfika zagrożeń bez-



Ryc. 3. Liczba przypadków nowotworów gruczołu krokowego wyrażona w procentach w zależności od wieku wg National Cancer Institute, SEER Program 2001 [7]

Figure 3. The number of prostate cancer cause (presented in percentage), depending on the age, according to National Cancer Institute, SEER Program 2001 [7]

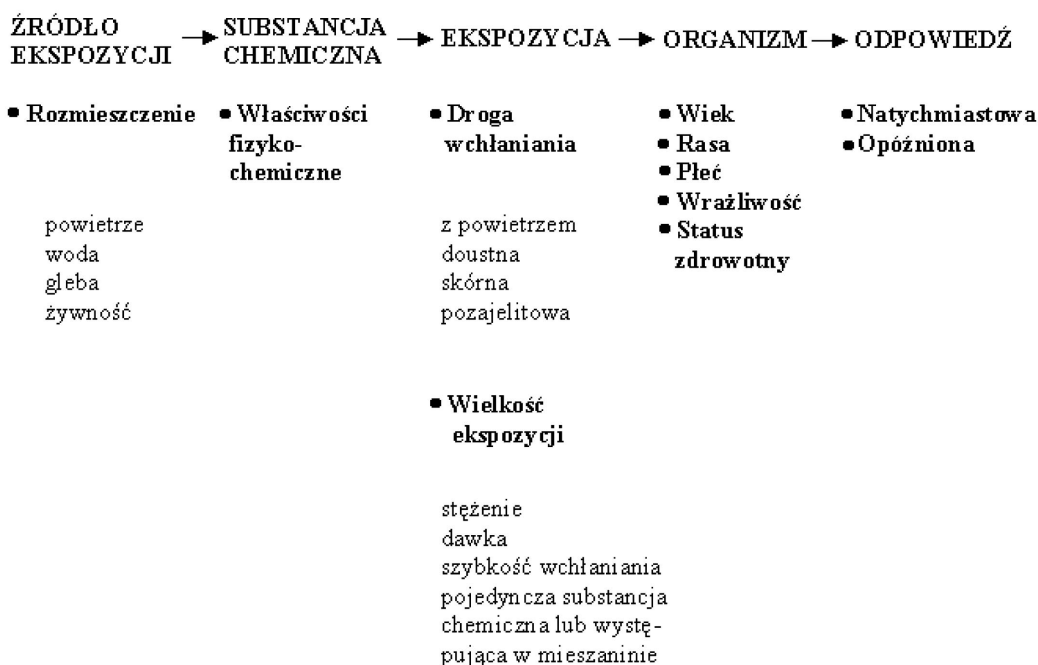
pośrednich i pośrednich przemysłu stanowią główne czynniki potencjalnego zagrożenia nowotworowego. Współczesny człowiek jest narażony w życiu codziennym i pracy zawodowej na działanie wielu związków chemicznych. Część z nich, poza bezpośrednim działaniem toksycznym w określonych warunkach, ma zdolność indukowania nowotworów.

Udowodniono, że wiele czynników, które są schematycznie przedstawione na Rycinie 4, wpływa na zdrowie człowieka [8]. Decyduje o tym nie tylko stan skażenia środowiska, ale także właściwości fizykochemiczne substancji chemicznych oraz wiek i okres narażenia.

Substancje chemiczne mogą docierać do organizmu głównie na drodze łańcucha pokarmowego i układu odde-

chowego. W zależności od własności fizyko-chemicznych niektóre substancje toksyczne mogą być szybko wchłaniane i powoli wydalane, co może przyczyniać się do zwiększenia ich poziomu w niektórych narządach. Także stężenia substancji toksycznej w organizmach żyjących w środowisku wodnym rzadko są takie same, jak stężenia zewnętrzne (w wodzie), dlatego substancje, które łatwo ulegają wchłanianiu i są powoli wydalane, mogą odkładać się w bardzo dużych stężeniach (np. związki kadmu, rtęci, ołowiu).

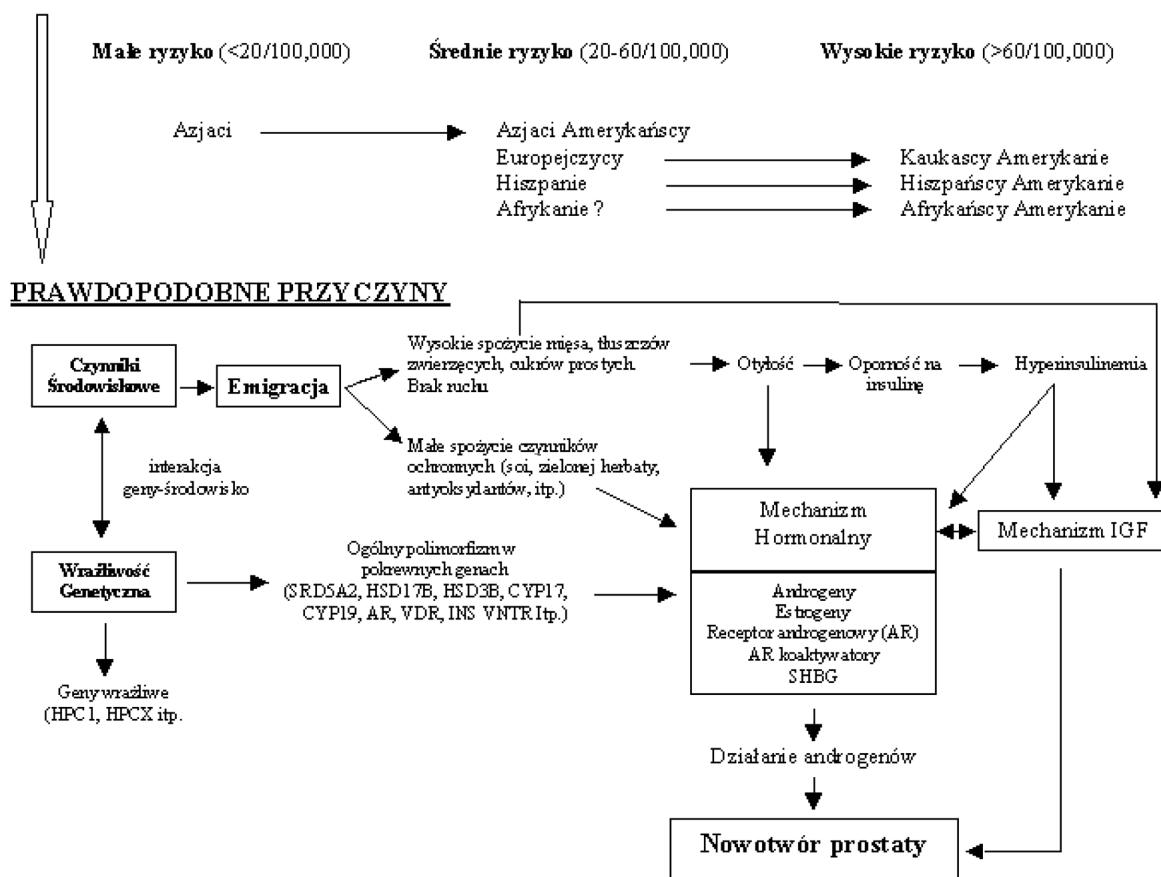
Niebezpieczeństwo zatrucia kadmem i jego związkami istnieje głównie w zakładach przemysłowych produkujących stopy, zużywających surowce zawierające kadm, w hutnictwie cynku, galwanizacji stali, spawalnic-



Ryc. 4. Niektóre czynniki wpływające na reakcję (odpowiedź) organizmu. Przez odpowiedź przyjmujemy część (mierzoną odsetkiem) populacji narażonej na określony czynnik szkodliwy w ustalonym stężeniu, w której wystąpiły określone skutki zdrowotne [8]

Figure 4. Some factors which cause the reaction (dose-effect relationship) of the organism. By relationships is meant the part (in percentage) of the population exposed to a definite harmful factor in determined dose [8]

RASOWO/ETNICZNE RÓŻNICE W RYZYKU POWSTAWANIA NOWOTWORÓW PROSTATY



Ryc. 5. Czynniki wpływające na ryzyko powstania nowotworów gruczołu krokowego wg Hsinga i Devesa [12]

Figure 5. Factor which cause the risk of prostate cancer, according to Hsing and Devesa [12]

twie, przy produkcji akumulatorów. W związku z tym tereny położone w sąsiedztwie kopalń i hut metali nieżelaznych są często w znacznym stopniu zanieczyszczone kadmem. Chlorek kadmu stosowany jest jako pestycyd oraz do produkcji błon filmowych i barwienia tkanin, natomiast siarczan kadmu używany jest jako stabilizator oraz do produkcji tworzyw sztucznych i barwników [9, 10].

Istotnymi źródłami narażenia ludzi na kadm jest pożywienie i woda, szczególnie dla ludzi zamieszkujących okolice zakładów przemysłowych, z których kadm jest emitowany do powietrza atmosferycznego. Zanieczyszczenie gleby kadmem w istotny sposób wpływa na zanieczyszczenie żywności. Przeciętna podaż Cd z pożywieniem wynosi około 20 µg/dzień. Największy udział w pobraniu całodziennym Cd mają płody rolne i produkty ich przetwórstwa (stanowią 70% całkowitego pobrania kadmu) [9, 11].

Z najnowszych danych zebranych przez Hsing i Devesa [12], które obrazuje Rycina 5, wynika, że bardzo duża liczba czynników wpływa na ryzyko powstawania nowotworów gruczołu krokowego. Jak widać z przedstawionej ryciny, obejmują one nie tylko czynniki środowiskowe, ale także różnice etniczne, genetyczne, które wpływają również na układ hormonalny człowieka. Na podstawie ostatnich doniesień nie można także wykluczyć wpływu

kadmu na powstawanie nowotworów gruczołu krokowego [13-17].

Efekty kancerogenne związków chemicznych

Rozwój wiedzy ostatniego 20-lecia wyraźnie wskazuje, że czynniki środowiskowe mają bezpośredni wpływ na wywołanie nowotworów u ludzi [9]. Potwierdzają to doniesienia dotyczące wywołania nowotworu „zawodowego” przez różne związki chemiczne, takie jak: nowotwór pęcherza moczowego u robotników narażonych na aminy aromatyczne, nowotwory płuc u osób narażonych na różne metale toksyczne. Wykazano również dodatnią korelację między paleniem papierosów, a zachorowalnością na nowotwory płuc. Należy także podkreślić, że nie zawsze istnieje korelacja między ostrą toksycznością a rakotwórczością. Toksyczność ostra charakteryzuje się szybkim rozwojem szkodliwych zmian w organizmie, powstających w ciągu krótkiego czasu po wprowadzeniu jednorazowej dawki trucizny dożołądkowo, inhalacyjnie lub po naniesieniu na skórę. Na ogół objawy uszkodzenia lub śmierć występują po 24 godzinach. Charakteryzują się przeważnie dużą dynamiką objawów klinicznych [18]. Często związek chemiczny o dużej ostrej toksyczności nie wykazuje działania nowotworowego, a związek chemiczny, który

wywołuje u zwierząt nieznaczne działania toksyczne, w ostrym zatruciu może mieć bardzo silne działanie rakotwórcze [18]. Skutki działania toksycznego, w zależności od rodzaju substancji, występują i rozwijają się nieraz po narażeniu powtarzanym i wynikają z kumulacji związku toksycznego lub jego metabolitów w organizmie. Występuje wówczas okres utajenia, który może być bardzo długi, zwłaszcza wtedy, kiedy dawka substancji chemicznej jest bardzo mała.

Mechanizmy karcynogenezy chemicznej są złożone i w aktualnym stanie wiedzy tylko częściowo wyjaśnione. Końcowy wynik działania związku rakotwórczego (powstanie nowotworu u ludzi i zwierząt) poprzedzony jest licznymi reakcjami [18]. Są one kontrolowane i modyfikowane przez zmienne czynniki wewnątrzustrojowe i zewnętrzne. W zależności od związku różnią się czasem występowania i obejmują dwie sekwencje wydarzeń.

W świetle hipotez ostatnich lat, dotyczących mechanizmów karcynogenezy chemicznej, zróżnicowane właściwości i odmienna aktywność biologiczna znanych związków rakotwórczych pozwala podzielić je na dwa zasadnicze rodzaje: genotoksyczne i epigenetyczne.

Za genotoksyczne są uważane wszystkie związki mające zdolność do wiązania się z DNA komórki, naruszania jego struktury i funkcji lub systemów naprawy DNA. Wiele z nich ma aktywne ugrupowania elektrofilowe, łatwo reagujące z nukleofilowymi grupami kwasów rybonukleinowych i białek. Są one zawsze mutagenne. Interakcja z DNA prowadzi do transformacji nowotworowej komórek w pierwszym etapie rozwoju karcynogenezy. Można założyć, że związki te powodują zaburzenia, mutacje w obrębie genomu.

Karcynogeny epigenetyczne nie wiążą się z DNA, a podstawą ich działania rakotwórczego są takie procesy i reakcje biologiczne, jak: cytotoksyczność, chroniczne uszkodzenie tkanek, zaburzenia hormonalne, immunologiczne lub aktywność promocyjna. Nie można wykluczyć ich bezpośredniego działania genotoksycznego przez zaburzenie syntezy DNA czy wytwarzanie wolnych rodników tlenowych. W większości jednak działanie związane jest z drugą fazą procesu nowotworowego – z etapem rozwoju nowotworu, przez wpływ na komórki dziedzicznie zmienione lub uwrażliwione karcynogenami genotoksycznymi.

Są dowody wskazujące na istnienie ważnych etapów w rozwoju nowotworów pod wpływem dostatecznie silnej ekspozycji ssaków, w tym człowieka, na rakotwórcze substancje chemiczne [18]:

- przeniknięcie związku chemicznego z miejsca, w którym dostaje się on do organizmu i w wielu przypadkach zmetabolizowanie go (głównie w wątrobie) do bardziej aktywnej formy;
- interakcja cząsteczki czy jej reaktywnego metabolitu z narażoną cząsteczką w komórce (najważniejsza jest interakcja z DNA);
- ekspresja uszkodzenia DNA jako potencjalnie rakotwórcze uszkodzenie
- progresja pod wpływem działania czynników modyfikujących i proliferacja do formy nowotworu złośliwego.

Komórki mogą przeżyć potencjalnie letalne uszkodzenia DNA dzięki aktywności różnych procesów biochemicznych, które prowadzą do naprawy DNA. Najprostsza forma reparaacji DNA polega na usunięciu uszkodzenia, spowodowanego przez związek chemiczny i zreperowaniu pozostałej przerwy w nici DNA poprzez syntezę nowego DNA, przy użyciu nie uszkodzonej nici siostrzanej, która stanowi matrycę. Uszkodzenie DNA, które nie daje się naprawić za pomocą tego mechanizmu, interferuje z normalną syntezą (replikacją) DNA. Stymuluje ono inny rodzaj naprawy DNA (naprawę poreplikacyjną), która z uwagi na to, że nie zawsze jest właściwa, może prowadzić do zmian mutagennych w DNA. Wykrywanie procesu replikacji DNA, nazywanego w komórkach ssaków nieplanową syntezą DNA (będącego odpowiedzią na uszkodzenia kwasu doksyrybonukleinowego), stanowi podstawę metody służącej do identyfikacji związków chemicznych, które powodują uszkodzenia DNA.

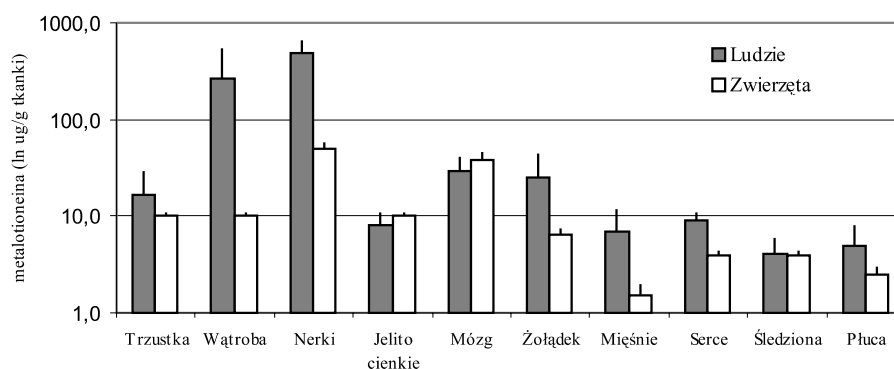
Do metali o działaniu nowotworowym na układ oddechowy zostały zakwalifikowane nie tylko związki chromu sześciowartościowego, ale także związki: arsenu, berylu i niklu [19-22]. W ostatnich latach z uwagi na zanieczyszczenie środowiska coraz więcej uwagi zwraca się na kadm [9], szczególnie w krajach uprzemysłowionych. Metal ten wyróżnia się od innych metali bardzo długim półokresem wydalania z organizmu człowieka (15-20 lat). Chlorek kadmu powoduje uszkodzenie DNA w komórkach ludzkich *in vitro*. Aberracje chromosomowe stwierdzono w komórkach ludzkich poddanych działaniu siarczynu kadmu. Aneuploidię stwierdzono w komórkach ludzkich fibroblastów, poddanych działaniu chlorku kadmu. Wyniki badań hodowli komórek zwierzęcych wskazują, że związki kadmu uszkadzają materiał genetyczny. Stwierdzono *in vitro* pęknięcia nici DNA, mutacje, uszkodzenia chromosomów oraz transformacje komórek. Związki kadmu hamowały naprawę DNA uszkodzonego pod wpływem innych związków, powodując zwiększenie ich działania genotoksycznego [10].

Toksyczne działanie kadmu

Uszkodzenia układu oddechowego i czynności nerek są podstawowymi szkodliwymi skutkami u człowieka narażonego na związki kadmu.

U ludzi wydajność wchłaniania kadmu z przewodu pokarmowego wynosi około 4-6%, a około 5-20% wdychanego kadmu ulega deponowaniu w płucach. Bezpośrednio po wchłonięciu kadm ulega wiązaniu z albuminą osocza, następnie jest wychwytywany w wątrobie i po uwolnieniu wiązany z metalotioneiną, niskocząsteczkowym białkiem o ciężarze cząsteczkowym 6000 kDa, zawierającym 30% cysteiny [23]. Metalotioneina występuje w różnych tkankach, zarówno u ludzi, jak u zwierząt (Rycina 6). Największe stężenie tego białka znaleziono w wątrobie i nerkach u ludzi [24]. Białko to odgrywa istotną rolę w procesach kumulacji, transportu i detoksykacji również innych metali, nie tylko kadmu [25-32].

Metalotioneina kadmowo-cynkowa jest uwalniana w niewielkich ilościach z wątroby do krwi, i ulega resorp-



Ryc. 6. Zawartość metalotioneiny (ln µg/g tkanki) w wybranych narządach ludzi i zwierząt wg Hilmaier i wsp. [24]
Figure 6. Metallothionein concentration in various organs of humans and animals [24]

cji w kanalikach nerkowych. Po degradacji kompleksu w lizosomach, uwolniony kadm ulega w nerce wiązaniu z wytworzoną w tym narządzie metalotioneiną, bogatą w miedź [33]. W krwi kadm występuje głównie w erytrocytach w postaci kompleksu z metalotioneiną. W przypadku umiarkowanego narażenia 40-80% kadmu znajduje się w nerkach i wątrobie, a około 20% w mięśniach.

Wolne jony kadmowe, nie związane w komórce z metalotioneiną, tworzą wiązania kowalencyjne i jonowe z atomami siarki, wodoru i tlenu, występującymi w elementach makro- i mikrocząsteczkowych składników komórek. Kadm obecny w komórkach nerkowych jest wiązany przez metalotioneinę, ponieważ ma kilkadziesiąt razy większe powinowactwo do tego białka niż cynk. Proces biosyntezy metalotioneiny, zachodzący w komórkach nerkowych w odpowiedzi na wpływ kadmu, jest regulowany w cytoplazmie na poziomie translacji, tj. syntezy łańcucha polipeptydowego na rybosomach z udziałem specyficznego mRNA (mRNA – informacyjny RNA, w którym zachowana jest sekwencja aminokwasów cząsteczki metalotioneiny). Przy wysokim narażeniu na związki kadmu wolne jony kadmowe, nie związane z metalotioneiną, powodują uszkodzenie nerek, co prowadzi do zwiększonego wydalania z moczem wielu pierwiastków niezbędnych dla ustroju, w tym cynku, miedzi i wapnia. Wg Elindera [34] kadm w organizmie żywym powoduje:

- zmiany w rozmieszczeniu cynku, miedzi, żelaza, magnezu, wapnia, seleniu na zasadzie procesów interakcji, co może objawiać się deficytem tych związków w poszczególnych tkankach;
- obniżenie wskaźników hematologicznych (żelaza, hemoglobiny, hematokrytu);
- zaburzenia metabolizmu węglowodanów poprzez zmniejszenie wydzielania insuliny;
- zahamowanie oddychania tkankowego, indukowanie peroksydacji lipidów.

Stwierdzono, że pożywienie zawierające niedostateczną ilość wapnia powoduje wzrost wchłaniania kadmu z przewodu pokarmowego, a tym samym, kumulację tego metalu w organizmie oraz uwydatnienie jego toksycznego działania. Na stopień wchłaniania i toksyczności kadmu u ludzi i zwierząt wpływają oprócz wapnia także żelazo, cynk, miedź oraz witamina C i witamina D³ [35-

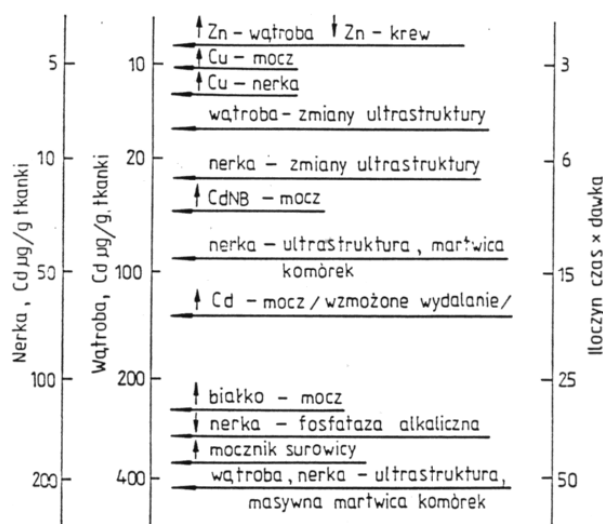
-37]. Demineralizację kości, osteoporozę oraz samorzutne złamanie kości stwierdzono u osób narażonych przewlekłe na wysokie stężenie kadmu znajdującego się w żywności. Taki zespół objawów, charakteryzujący się bólem kości, który po raz pierwszy zaobserwowano w Japonii w 1964 r., nazwano Itai-Itai [8]. Dzielne spożycie kadmu u osób z tym zespołem wynosiło ponad 140 µg.

Z punktu widzenia toksycznego działania kadmu szczególną rolę odgrywa interakcja między kadmem a cynkiem. Najsilniejszym ze znanych induktorów metalotioneiny jest kadm [38]. Zakłada się, że patogeniza toksycznego działania kadmu na komórki kanalików nerkowych jest związana z obecnością tego metalu, nie związanego z metalotioneiną [9]. W normalnych warunkach metalotioneina wysycana jest przede wszystkim cynkiem i miedzią. Kadm wypiera cynk z metalotioneiny i stymuluje jej syntezę [39-41].

Zwiększenie podaży cynku częściowo łagodzi skutki szkodliwego działania kadmu – w zależności od czasu i dawki narażenia cynk przyczynia się do eliminacji kadmu z narządów wewnętrznych [42, 43]. Badania na zwierzętach wykazały kolejność występowania skutków biologicznych i morfologicznych w odniesieniu do stężenia kadmu w nerce i czasu ekspozycji [44]. Wyniki te obrazuje Ry-cina 7, w której zastosowano pojęcie iloczynu (dawka x czas narażenia). Ze względu na bardzo długi półokres wydalania kadmu należy liczyć się z tym, iż po zaprzestaniu narażenia objawy toksycznego działania tego metalu mogą się nasilać nie tylko u zwierząt, ale i u ludzi [38, 45-48].

W nerkach kadm zaburza funkcję lizosomów i jądra, indukuje utratę białek przez kanaliki i ogranicza w kanalikach transport aminokwasów. Rodzaj obserwowanych zmian odpowiada obrazowi zapalenia kłębuszków nerkowych na tle odpornościowym, w związku z tym przypuszcza się, że kadm pobudza mechanizm autoagresji immunologicznej [49, 50]. Według tych autorów markery diagnostyczne stanu nerki można podzielić na trzy katego-rie:

- funkcjonalne: białko moczu pochodzące z osocza krwi (RBP, β₂m globuliny, albuminy, transferyny, IgG) oraz kreatynina;
- cytotoksyczności: antygeny komórkowe (BB50, BBA,



Ryc. 7. Kolejność występowania skutków biologicznych i morfologicznych w odniesieniu do stężenia Cd w wątrobie i nerce szczura, w zależności od dawki i czasu ekspozycji [44]

Figure 7. Response and sequence of biological and morphological effects in relation to Cd concentration in rat liver and kidney depending on the dose and time of exposure [44]

HF5), jelitowa fosfataza alkaliczna IAP, glikoproteiny i enzym N-acetylo- β -glukozaminidaza (NAG) w moczu;

- biochemiczne: prostaglandyny, tromboxan, kalikreina, kwas sialowy i glikozaminoglikany w moczu oraz kwas sialowy w osoczu i obdarzone ujemnym ładunkiem czerwone ciała krwi.

Według niektórych autorów specyficznym wskaźnikiem, związanym z nefrotoksycznym działaniem kadmu, jest stężenie metalotioneiny w moczu ludzi. Kadm, powodując wzrost stężenia metalotioneiny w narządach i we krwi, może wpływać na wzrost jej wydalania przez nerki [51-53]. Obecność MT w moczu może być również tłumaczona uszkodzeniem nabłonka kanalików nerkowych [38].

Wydalanie miedzi z moczem następuje wówczas, gdy stężenie kadmu w nerkach u ludzi przekracza $50 \mu\text{gCd/g}$, a u zwierząt $10\text{-}20 \mu\text{gCd/g}$ [54]. Wysoką wartość diagnostyczną tego parametru potwierdzają badania przeprowadzone u ludzi narażonych na kadm, zarówno zawodowo, jak i środowiskowo [55-57]. Wykazano korelację pomiędzy zwiększonym wydalaniem metalotioneiny i miedzi z moczem ludzi [51, 58].

Należy jednak podkreślić, że do oceny nefrotoksycznego działania kadmu żaden z wyżej wymienionych biomarkerów nie może być stosowany jako jedyny i swoisty. Proteinuria, glikozuria, enzymuria, aminoacyduria i β 2-mikroglobulinuria oraz wydalanie cynku i miedzi z moczem są to biomarkery sygnalizujące o zaburzeniu czynności nerek, która może być spowodowana także innymi metalami toksycznymi [25-32, 59-61]. Także gentamycyna powoduje zwiększone wydalanie cynku i miedzi, chociaż nie indukuje metalotioneiny [62]. W związku z powyższym, przy obecnym stanie wiedzy, proponuje się, by ocenę narażenia na związki kadmu przeprowadzić na podstawie

zastosowania jednoczesnego oznaczenia w moczu: kadmu, metalotioneiny i β 2-mikroglobulin [8, 10].

Działanie kancerogenne kadmu

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem uznała kadm w roku 1993 za czynnik rakotwórczy dla ludzi (grupa 1) (IARC, 1993) [63]. Wniosek ten został oparty głównie na zależności między skumulowanym narażeniem na kadm i częstością występowania nowotworów płuc w kohorcie pracowników zatrudnionych w zakładzie odzyskiwania kadmu w Stanach Zjednoczonych. Stwierdzono, że kadm ma zdolność powodowania zmian w materiale genetycznym, szczególnie w chromosomach komórek ssaków. Komórki bakterii wydają się być odporne na działanie związków kadmu. Dokonując ogólnej oceny rakotwórczego działania kadmu wzięto pod uwagę dowody wskazujące, że jony kadmu oddziaływały na materiał genetyczny różnych rodzajów komórek eukariotów, łącznie z komórkami ludzi.

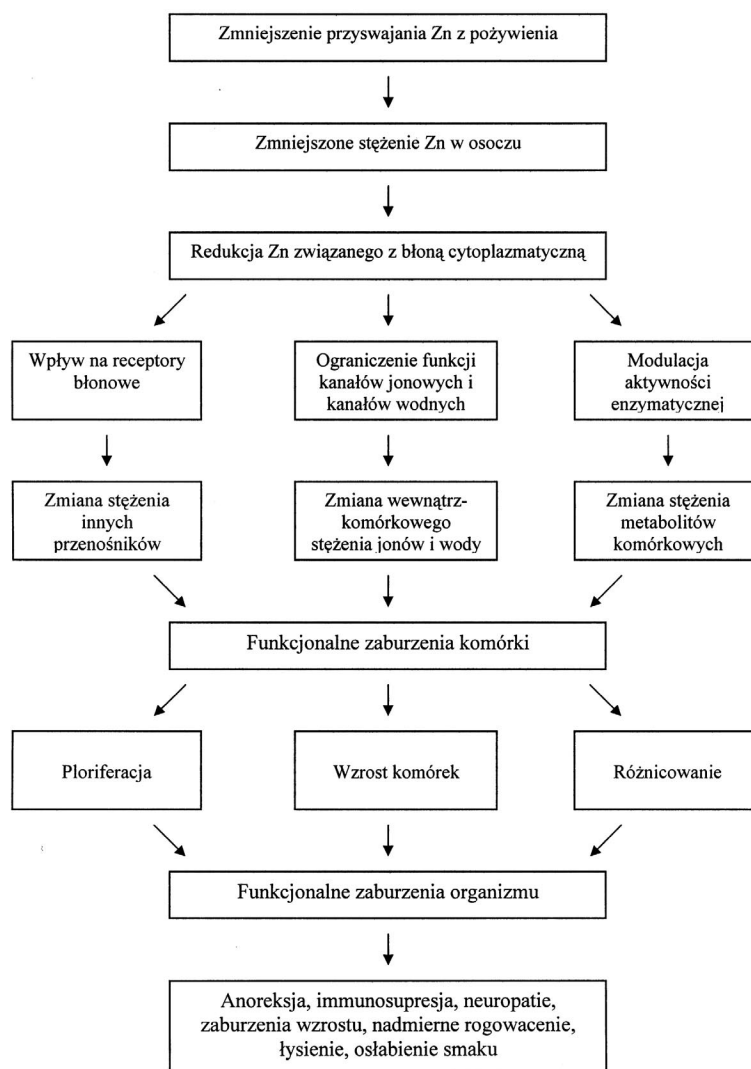
Badania dotyczące wpływu kadmu na powstawanie nowotworów gruczołu krokowego były prowadzone *in vitro* i *in vivo*. Mechanizm kancerogennego działania kadmu w powstawaniu nowotworów gruczołu krokowego jest ciągle niewyjaśniony i dotyczy głównie wyjaśnienia procesów interakcji między kadmem, a pierwiastkami niezbędnymi [13-17, 64-77]. W organizmach żywych pierwiastki, które odgrywają ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego metabolizmu, występując w różnych stężeniach, nazywane są mikro- i makroelementami. Poziom i wzajemne proporcje tych pierwiastków w tkankach i komórkach decydują o stanie zdrowia organizmu oraz przemianie metabolicznej innych składników odżywczych. W badaniach na zwierzętach wykazano, że kadm wpływa na zmianę metabolizmu seleniu, ale także miedzi i cynku [28, 78] oraz wapnia [79]. Udowodniono, że kadm powoduje demineralizację kości.

Układ kostny jest najczęstszą lokalizacją przerzutów odległych w nowotworach gruczołu krokowego. Obecność przerzutów kostnych stwierdza się aż u 40% chorych w momencie rozpoznania raka gruczołu krokowego [80, 81]. Wraz z rozwojem choroby do wystąpienia przerzutów do kości dochodzi u 85% spośród wszystkich chorych z rozpoznany rakiem stercza [82].

Interakcje kadmu z pierwiastkami niezbędnymi w ustroju żywym – Interakcja kadmu z cynkiem

Właściwa zawartość cynku w organizmie człowieka wpływa na liczne procesy metaboliczne, zachodzące w ustroju; niedobór tego metalu, jak wykazano wyżej, może być spowodowany kadmem, który jest najsilniejszym jego antagonistą. Zwiększone stężenie kadmu w ustroju żywym powoduje zwiększone wydalanie cynku [51, 54]. Efekty kliniczne, diagnostyczne i metaboliczne niedoboru cynku u ludzi przedstawiono na Rycinie 8 [83].

Stwierdzono, że w przypadkach nowotworów gruczołu krokowego u ludzi poziom kadmu w tych tkankach wzrasta, natomiast poziom cynku obniża się, co wskazuje



Ryc. 8. Schematyczne przedstawienie niedoboru cynku wg Markan i wsp. [83]

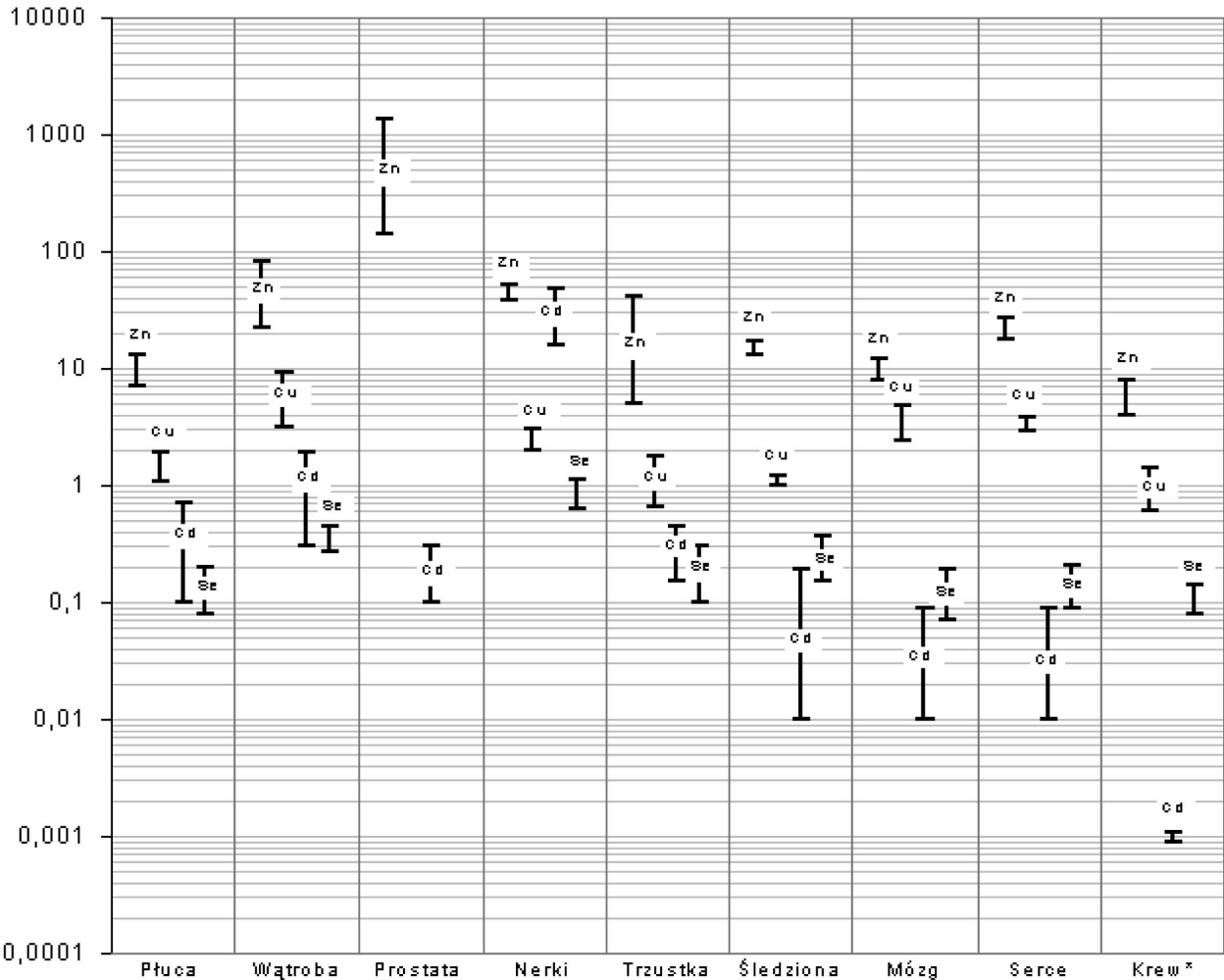
Figure 8. The effects of zinc deficient, according to Markan and oth [83]

na wyraźne procesy interakcji tych metali w tkankach nowotworowych [17, 66, 84-86]. Na uwagę zasługuje również fakt, że kadm, zastępując cynk, może odgrywać ważną rolę w przemianach hormonów steroidowych; tym samym kadm może być czynnikiem wywołującym nowotwory gruczołu krokowego [46]. Zaburzenia równowagi androgenowo-estrogenowej mogą prowadzić do zaburzeń metabolizmu w gruczole krokowym. Mechanizm działania estrogenów jest prawdopodobnie ukierunkowany na obniżenie androgenów i bezpośrednio cytostatycznie na guza. Niektórzy autorzy uważają cynk za modulator androgenowy. Przekształcenie testosteronu do aktywniejszego biologicznie 5α -dihydrotestosteronu przez 5α -reduktazę jest regulowane przez cynk. Jest on konieczny dla wiązania przekształconego kompleksu DHT (dihydrotestosteron) – receptor cytoplazmatyczny do jądra komórkowego, a ta interakcja indukuje transkrypcję RNA i syntezę białek, takich jak: białka wydzielnicze gruczołu krokowego czy też białka receptorowe. Można więc sądzić, że następstwem zmian zawartości cynku w sterzu mogą być zmiany w metabolizmie testosteronu, co z kolei w sytuacji zmienionej funkcji androgenowej jądra w starszym wieku mogłoby

powodować ujawnienie się lub nawet powstanie schorzeń gruczołu krokowego [87].

Zgodnie z danymi różnych autorów u ludzi zdrowych, spośród niezbędnych pierwiastków, biorących udział w biosyntezie MT w różnych tkankach, najwyższe stężenie cynku występuje w gruczole krokowym (Ryc. 9) [54, 88, 89]. Ponieważ metalotioneina spełnia rolę detoksykacyjną w ustroju, nie wyklucza się, że poziom tego białka może spełnić rolę czułego wskaźnika w kancerogenezie w narządach i komórkach [70]. Wskazują na to również badania Hochadela i wsp. [75], dotyczące uszkodzenia DNA pod wpływem kadmu. Inne wskaźniki, takie jak: poziom cynku, androgenów i estrogenów u zwierząt narażonych na kadm, wykazały zróżnicowanie w nowotworach prostaty w porównaniu z grupą kontrolną [13, 90, 91]. Wykazano, że testosteron może stymulować ekspresję genu metalotioneiny w prostaty [92].

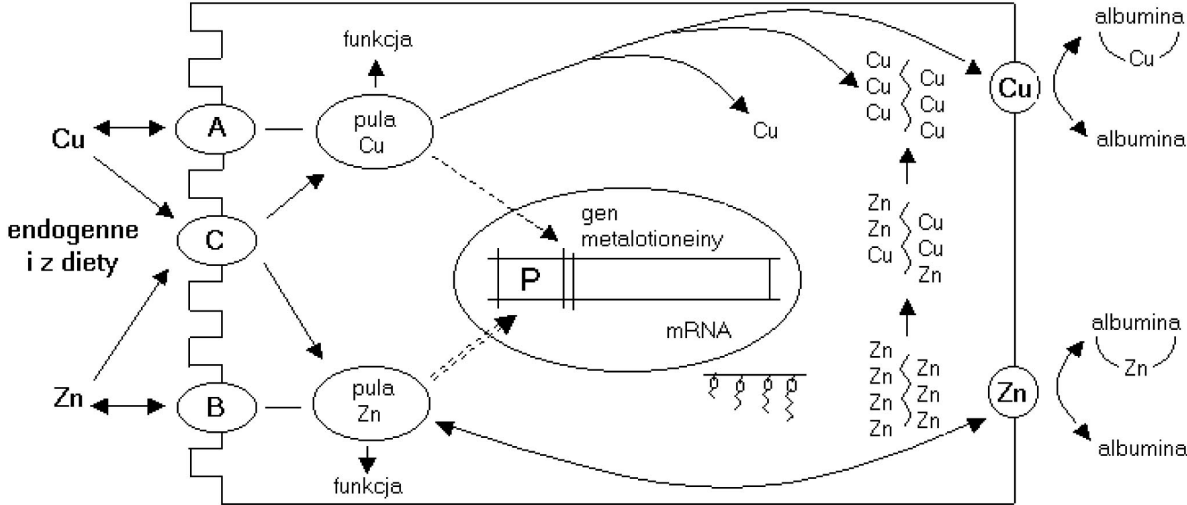
Badania przeprowadzone przez Cousinsa i Richardsa [93-95] nad mechanizmem regulacji poziomów cynku i miedzi przez MT w ustroju pozwoliły przedstawić model tego procesu w komórkach jelita (Ryc. 10). Dostarczone z pożywieniem metale (cynk i miedź) przedostają się do



Ryc. 9. Zawartość cynku, miedzi, kadmu i seleniu w tkankach i narządach człowieka (ln µg/g mokrej tkanki) [54, 88, 89]
Figure 9. Concentration of zinc, copper, cadmium and selenium in human tissues and organs (in ln µg/g of wet tissue) [54, 88, 89]

światło
jelita

surowica



Ryc. 10. Schemat regulacji poziomu cynku i miedzi w komórkach jelita wg Cousins [96]
Figure 10. Scheme of the regulation of zinc and copper level in intestine cells, according to Cousins [96]

komórki jelita przenikając błonę rąbka szczoteczkowego enterocyty. Pula cynku i miedzi pozostaje w równowadze z Zn-metalotioneiną i Cu-metalotioneiną. Nadmiar nie związanego cynku i miedzi powoduje uaktywnienie procesu stymulacji i biosyntezy metalotioneiny. Wysoki poziom tego białka w komórce jelita zmniejsza również absorpcję cynku. Część nie związanych z metalotioneiną metali przedostaje się wraz z krwią do wątroby. W tym procesie cynk i miedź współzawodniczą w transporcie przez błony komórki enterocyty. We krwi cynk ma większe powinowactwo do albumin. Wzrost poziomu metalotioneiny w wątrobie powoduje wiązanie nadmiaru cynku krążącego we krwi. Uwolnienie cynku z wątroby następuje odpowiednio do zapotrzebowania organizmu. Nadmiar cynku we krwi może być wydalony z ustroju zarówno przez przewód pokarmowy, jak i ze złuszczacymi się komórkami nabłonka, w postaci kompleksów z metalotioneiną.

Na szczególną uwagę zasługuje rola cynku w każdym etapie cyklu komórkowego, regulacji ekspresji genów i syntezy DNA. Udokumentowana jest ekspresja genu metalotioneiny przez cynk. Stwierdzono, że podwyższony poziom cynku w diecie może potencjalnie wykazywać działanie antyoksydacyjne, dzięki zwiększeniu zawartości metalotioneiny cynkowej w wątrobie, nerkach i jelicie. Cynk odgrywa rolę w ekspresji genów oraz pełni rolę drugiego przekaznika [96, 97].

Niedobór cynku osłabia odporność komórkową i humoralną oraz ogranicza wytwarzanie przeciwciał, zmniejsza proliferację komórek i obniża wytwarzanie cytokin [98]. W ostatnich latach cynk został uznany za związek antywolnorodnikowy [99]. Jego działanie przeciwutleniające może wynikać z dwóch mechanizmów:

- ochronnej i stabilizacyjnej funkcji cynku dla białek i enzymów (cynk tworzy chelaty z grupami sulfhydrylowymi i wywołuje zmiany przestrzenne w enzymach, przez co zmniejsza ich reaktywność);
- zmniejszenia tworzenia rodników OH^- i O_2^- przez inne metale (cynk konkuruje z innymi metalami peroksydacyjnymi, takimi jak Fe i Cu).

Z doniesień Costello i wsp. wynika, że cynk hamuje wzrost komórek nowotworowych w tkankach prostaty, wpływając na cykl komórkowy i apoptozę [100-104].

U organizmów wielokomórkowych obserwuje się dwa rodzaje śmierci komórek: śmierć fizjologiczną i nie fizjologiczną [105]. Pierwsza ma miejsce podczas rozwoju i morfogenezy, natomiast druga podczas toksycznego uszkodzenia komórek, spowodowanego między innymi niedotlenowaniem, bakteryjnymi toksynami lub cytostatykami. Stosunkowo najlepiej opisaną postacią fizjologicznej śmierci komórki jest apoptoza, zwana również programowaną śmiercią komórek [106]. Według Szali [107] apoptoza może być indukowana w komórkach za pośrednictwem zewnętrznych sygnałów natury białkowej, pochodzących od innych komórek. Może też być wywołana w komórkach różnymi czynnikami stresu (np. uszkodzenie DNA, niedotlenienie komórek, aktywacja onkogenów). Jedną z podstawowych funkcji apoptozy jest eliminacja komórek, w których uszkodzenia DNA, wadliwa prolifera-

cja, niewłaściwa adhezja do macierzy pozakomórkowej nie mogą być usunięte lub naprawione. W regulacji procesu apoptozy biorą udział zarówno białka proapoptyczne, jak i białka antyapoptyczne. Od ich wzajemnych relacji zależy, czy w komórkach zostanie wydukowana apoptoza. W komórkach nowotworowych obserwuje się wzrost oporności na większość sygnałów indukujących apoptozę. Apoptozę można wywołać w zdrowych i nowotworowych komórkach za pomocą leków, białek czy promieniowania, za pomocą kontrolowanego czynnika wpływającego na mitochondria komórek, od których zaczyna się proces apoptozy.

Stwierdzono, że właściwe stężenie cynku w komórkach może odgrywać znaczącą rolę w powstawaniu nowotworów prostaty [108-110]. Szczególnie wysokie stężenie tego pierwiastka zaobserwowano w mitochondriach komórek nabłonkowych prostaty. Występuje zależność między stężeniem cynku, cytrynianu i aktywnością m-akonitazy w prostacie [111]. Wymienieni autorzy stwierdzili, że brak właściwego stężenia cynku w komórce, który jest inhibitorem m-akonitazy, powoduje zmiany w różnych etapach cyklu Krebsa, doprowadzając do nagromadzenia niekontrolowanych produktów utleniania. Efekt ten jest skutkiem powstawania apoptozy w komórce. Odpowiednio wysoki poziom cynku hamuje mitochondrialną m-akonitazę, co zmniejsza utlenienie cytrynianu. Ten proces w cyklu Krebsa wyraźnie obniża produkcję energii komórkowej (ATP), wykorzystywanej normalnie do utleniania cytrynianu. Obniżone stężenie cynku w gruczole krokowym powoduje nasilenie procesów utleniania cytrynianu i zmian stężenia ATP. Koncepcja ta daje nowe możliwości w leczeniu nowotworów stercza.

Różne sposoby leczenia mogą obniżać rakotwórcze działanie kadmu, włączając w to również suplementacje cynkiem, który ma ochronne działanie przed kancerogennym działaniem tego metalu [15].

Prewencyjne działanie selenu w powstawaniu nowotworów

O działaniu przeciwnowotworowym związków selenu donoszą liczne publikacje [112-121]. Stwierdzono, że selen powoduje apoptozę w komórkach nowotworowych [112-114].

Wszystkie związki selenu są dobrze wchłaniane z przewodu pokarmowego i układu oddechowego. Wchłonięty do krwi selen jest wiązany przez krwinki czerwone oraz albuminy i globuliny osocza. Selen kumuluje się w trzustce, wątrobie i nerkach, w mniejszym stopniu w sercu i przysadce mózgowej. Przechodzi przez łożysko, dostaje się do płodu i mleka matki.

Schemat metabolizmu związków selenu w ustroju według Ghantera i Lawrence'a [117] przedstawia Rycina 11. Aktywność biologiczną wykazują związki selenu – selenocysteina lub selenometionina, wbudowane w selenoproteiny [118, 119]. Selenozależna peroksydaza glutationu (GSe-Px), jest częścią enzymatycznego systemu przeciwutleniającego komórki, obok dysmutazy nadnadtlenkowej i katalazy. Ten kompleksowy system enzymów,

nadtlenek wodoru oraz organiczne nadtlenki powodują uszkodzenia w materiale genetycznym i prawdopodobnie przyczyniają się w ten sposób do powstawania nowotworów. Rolą peroksydazy glutationowej jest utrzymanie równowagi między tymi związkami, co chroni białka, organelle komórkowe i DNA przed uszkodzeniem. Selen we właściwych stężeniach działa jako przełącznik redoks, aktywujący lub inaktywujący komórkowe czynniki wzrostu oraz białka funkcjonalne, na drodze utleniania lub redukcji zewnętrznych grup $-SH$ i mostków disiarczkowych.

W miarę zwiększania dawki, kolejnym etapem aktywności antynowotworowej związków selenu jest wywołanie stresu oksydacyjnego i apoptozy (Ryc. 12). Zapoczątkowanie apoptozy przez związki selenu następuje pod wpływem glutationu [133].

Jednym z najważniejszych metabolitów związków selenu jest metyloselenol (CH_3SeH), który w odpowiednim stężeniu powoduje indukcję apoptozy, poprzez fragmentację jądrowego DNA [134, 135]. Efekt apoptotyczny selenu jest większy w androgenozależnych niż androgenoniezależnych liniach komórkowych [136, 137]. Stymulacja androgenami powoduje proliferację oraz zwiększa utlenianie, zarówno w nowotworowych jak i zdrowych komórkach stercza [138]. Selenin w odpowiednich stężeniach zapobiega powstawaniu nowotworów, poprzez hamowanie fazy G1, G2 i S cyklu komórkowego oraz syntezy białek. Podobnie zachowują się inne związki selenu w odpowiednich stężeniach [139-141].

Tak więc, im większe stężenie związków selenu w komórce, tym więcej utworzonych wolnych rodników i wytworzony większy stres oksydacyjny. Mechanizm tworzenia wolnych rodników i będący wynikiem tego stres oksydacyjny, wywołany przez selen może nie tylko powodować działanie antynowotworowe, ale także efekty toksyczne (Ryc. 12). Selen reaguje w sposób bezpośredni z kancerogenami, uniemożliwiając im łączenie się, a tym samym uszkodzenie DNA. Znane jest prewencyjne działanie selenu w powstawaniu raka po podaniu związku kancerogennego – DMBA oraz aflatoksyn [142].

Udowodniono wpływ selenu na procesy immunologiczne (stymulacja systemu odpornościowego) podczas powstawania nowotworu [119, 143].

Na uwagę zasługuje fakt, że istnieje tylko niewielka rozpiętość między potrzebną dla organizmu dawką selenu, a dawką toksyczną (Ryc. 12), co zmusza higienistów do szczególnej ostrożności w zakresie suplementacji selenem. Toksyczna dawka selenu dla człowieka wynosi ok. 700 μg /dobę [8]. Sugeruje się, że mechanizm zatrucia toksycznego selenu polega na jego kompetycyjnym działaniu z siarką i zaburzeniu jej prawidłowego fizjologicznego metabolizmu. Za zaburzenia może być odpowiedzialna powstająca selenocysteina i selenometionina. Selenin może również wypierać siarkę podczas syntezy kwasów merkapturowych i powodować zwiększenie ilości wydalanego z moczem selenu, prawdopodobnie w postaci kwasu selenomerkapturowego. Nie można również wykluczyć toksycznego działania selenu w procesach oksydoredukcyjnych takich związków jak: glutation, koenzym A czy kwas liponowy. Prawdopodobnie podstawą toksycznego działa-

nia jest powstawanie seleninów z selenianów. Selenocysteina i selenometionina są metabolizowane do dimetylku selenu i trimetylku selenu, a następnie do seleninów. W konsekwencji można sugerować, że mechanizm toksycznego działania może być wielotorowy i polegać na: 1) konkurencyjnym działaniu w stosunku do siarki w różnych związkach biologicznie czynnych, 2) zaburzeniach procesów alkilacji (istotnych dla prawidłowego funkcjonowania niektórych szlaków metabolicznych, np. amin katecholowych), 3) wytwarzaniu toksycznych związków alkilosenolowych, a także reakcji seleninów z grupami tiolowymi.

Stężenie selenu we krwi pełnej, osoczu i erytrocytach, po suplementacji seleninem, dążyło do osiągnięcia plateau. Natomiast suplementacja selenometioniną powodowała ciągły wzrost stężenia selenu wraz z kontynuacją podaży i zwiększeniem dawki [119, 120, 130]. Zawartość selenu w organizmie człowieka wynosi ok. 14,6 mg, największe stężenie tego pierwiastka występuje w nerkach i wątrobie (Ryc. 9). Stężenie selenu we krwi u ludzi w różnych krajach Europy waha się w granicach $63 \pm 14 - 109 \pm 14 \mu g/dm^3$ [89].

Suplementacja selenem, tj. 200 μg Se dziennie, jest wskazana w przypadku, gdy podaż kształtuje się poniżej dziennego zalecanego pobrania. Ilości takie podawano mężczyznom w badaniach przeprowadzonych przez Clark'a i wsp. [144] w postaci drożdży o dużej zawartości selenu. Zaobserwowano mniejszą o 37% zachorowalność na raka prostaty i 50% mniejszą śmiertelność u uczestników poddanych suplementacji.

Podsumowanie

Ze względu na swoje właściwości toksykodynamiczne kadm zaliczany jest do najbardziej toksycznych metali. Wykazuje on duże powinowactwo do struktur biologicznych zawierających grupy sulfhydrylowe, oraz powoduje zaburzenia metabolizmu pierwiastków niezbędnych, szczególnie cynku, miedzi, żelaza, magnezu, wapnia oraz selenu.

Niewiele jest badań epidemiologicznych wskazujących na powstawanie nowotworów gruczołu krokowego, spowodowanych działaniem kadmu. Problem ten jest w dalszym ciągu aktualny i wydaje się, że należy zachęcać do podejmowania międzynarodowych badań nad rolą kadmu jako czynnika rakotwórczego u ludzi.

Tam, gdzie to możliwe, istniejące kohorty osób narażonych zawodowo na kadm powinny być włączone do regionalnych rejestrów nowotworów w celu oceny częstości występowania nowotworów gruczołu krokowego (zachorowalności) w odniesieniu do narażenia na ten pierwiastek.

Istotne znaczenie posiada uzyskanie dalszych informacji na temat skutków zdrowotnych przewlekłego narażenia na kadm w środowisku bytowania, ze szczególnym uwzględnieniem dysfunkcji nerek.

W trakcie 33 spotkania Połączonego Komitetu Ekspertów FAO/WHO ds. Zanieczyszczeń Żywności i Dodatków do Żywności potwierdzono uzgodnione poprzed-

nio zalecenia, wskazujące, że nie należy przekraczać wartości tymczasowego tygodniowego, tolerowanego pobrania kadmu, wynoszącego 400-500 µg dla osób dorosłych.

W szacowaniu ryzyka skutków zdrowotnych, jakie stwarza dla ludzi narażenie na kadm, są badania dotyczące:

- 1) mechanizmu transportu Cd do komórki i czynników sterujących tym procesem;
- 2) mechanizmu działania toksycznego Cd, ze szczególnym uwzględnieniem nerek i układu kostnego oraz roli, jaką odgrywa w tych procesach kadm nie związany z metalotioneiną;
- 3) mechanizmu – spowodowanego działaniem kadmu – nadmiernego wydalania cynku, miedzi i wapnia z moczem oraz powiązania tego zjawiska z białkomoczem kanalikowym i demineralizacją kości;
- 4) znaczenia indukcji syntezy metalotioneiny w komórkach docelowych oraz jej związku z tymi zjawiskami, takimi jak uszkodzenie i naprawa DNA oraz struktury białka onkogenu.

Pośród metod podtrzymujących korzystne wyniki chemioterapii nowotworowej, na szczególną uwagę zasługuje immunoterapia. Po maksymalnym zmniejszeniu liczby komórek nowotworowych, możliwe staje się opóźnienie dalszego rozwoju nowotworu i przedłużenie remisji przez zastosowanie leków pobudzających mechanizmy obrony immunologicznej organizmu. W tym celu na uwagę zasługuje terapia preparatami selenu i cynku.

Suplementacja selenem we właściwych dawkach jest wskazana w przypadku, gdy podaż tego elementu kształtuje się poniżej dziennych norm żywieniowych. Najnowsze doniesienia wskazują na prewencyjne działanie związków selenu w powstawaniu nowotworów prostaty. Badania w tym zakresie w niektórych ośrodkach naukowych zaplanowane są na następną dekadę [145].

W ustaleniu przyczyn nowotworów gruczołu krokowego przyszłe programy powinny uwzględniać histologiczne badania tkanek oraz poziom w tych tkankach kadmu, cynku i selenu. Dotychczas nie przeprowadzono takich badań epidemiologicznych.

Także identyfikacja biomarkerów, mających praktyczne zastosowanie w ocenie różnych oddziaływań związków toksycznych i wynikających z tego skutków zdrowotnych, wymaga współpracy w różnych dziedzinach naukowych, co jest szczególnie niezbędne w odniesieniu do procesu kancerogenezy.

Dr Adam Daragó

Uniwersytet Medyczny
Wydział Farmacji
Katedra Toksykologii i Bromatologii
Zakład Toksykologii
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź

Piśmiennictwo

1. Wronkowski Z, Zwierko M, Chmielarczyk W. Epidemiologia nowotworów złośliwych w Polsce. *Onkologia do Przewodnika Lekarza* 2000; lipiec-sierpień: 12-15.
2. Wronkowski Z, Nowacki MP. Profilaktyka Nowotworowa. *Onkologia do Przewodnika Lekarza* 2000; lipiec-sierpień: 15-20.
3. Zatoński WA. *Nowotwory złośliwe w Polsce*. Warszawa: Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie; 1993.
4. Zatoński WA. *Nowotwory złośliwe w Polsce w 1996 roku*. Warszawa: Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie.
5. Baza danych WHO DATABANK 2001.
6. Mazurek LJ. *Onkologia Kliniczna* red. J. Zieliński. Warszawa: PZWL; 1986.
7. Baza danych National Cancer Institute, SEER Program 2001.
8. Chmielnicka J. Metale i metaloidy. W: *Toksykologia. Podręcznik dla lekarzy i farmaceutów*. W. Seńczuka (red.). Wyd. IV. Warszawa: PZWL; 2002.
9. International Programme on Chemical Safety – Cadmium. WHO Geneva 1992; 134.
10. Jakubowski M. Kadm i jego związki nieorganiczne. *Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy* 2001; 3; 93-131.
11. Herber R. Cadmium. Handbook on metals in clinical and analytical chemistry. New York: M. Dekker; 1994, 283-97.
12. Hsing AW, Devesa SS. Trends and patterns of prostate cancer: what do they suggest. *Epidemiol Rev* 2001; 23: 3-13.
13. Waalkes MP, Rehm S. Cadmium and prostate cancer. *J Toxicol Environ Health* 1994; 43: 251-69.
14. Waalkes MP. Cadmium carcinogenesis in review. *J Inorg Biochem* 2000; 79: 241-4.
15. Achanzar WE, Diwan BA, Liu J i wsp. Cadmium-induced malignant transformation of human prostate epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61: 455-8.
16. Taille A, Katz A, Vacherot F i wsp. Cancer of the prostate: influence of nutritional factors. *Presse Med* 2001; 30: 554-64.
17. Bryś M, Nawrocka A, Miękoś E i wsp. Zinc and cadmium analysis in human prostate neoplasms. *Biol Tra Elem Res* 1997; 59: 145-52.
18. International Programme on Chemical Safety – Mutagenic and carcinogenic chemicals, guide to short-term test for detecting. WHO Geneva 1985; 51.
19. International Programme on Chemical Safety – Arsenic. WHO Geneva 1981; 18.
20. International Programme on Chemical Safety – Chromium. WHO Geneva 1988; 61.
21. International Programme on Chemical Safety – Beryllium and beryllium compounds. WHO Geneva 2001; 32.
22. International Programme on Chemical Safety – Nickel. WHO Geneva 1991; 108.
23. Metallothionein II – Proceedings of the second International Meeting on Metallothionein and Other Low Molecular Weight Metal-binding Proteins. Zurich, August 21-24, 1985. Edited by Jeremias HR Kagi, Y Kojima, EXS Experientia Supplementum Vol. 52, Birkhauser Verlag Basel, Boston 1987.
24. Heilmair HE, Drasch GA, Kretschmer E i wsp. Metallothionein, cadmium, copper and zinc levels of human and rat tissues. *Toxicol Lett* 1987; 38: 205-11.
25. Chmielnicka J. Trace element as early indicators of metal nephrotoxicity. In proceedings, *Third International Congress on Trace Elements in Health and Disease* 1991; Trace'89, Adamar, Turkey.
26. Chmielnicka J, Brzeźnicka EA. The influence of selenium on the level of mercury and metallothionein in rat kidneys in prolonged exposure to different mercury compounds. *Bull Environ Contam Toxicol* 1978; 19: 183-90.
27. Brzeźnicka EA, Chmielnicka J. Interaction of alkylmercuric compounds with sodium selenite. III. Selenium-induced changes on the levels of metallothionein-like proteins and endogenous copper in some tissues of rats exposed to methyl- or ethylmercuric chloride. *Environ Health Perspect* 1985; 60: 423-31.
28. Komsta-Szumka E, Chmielnicka J. Effect of zinc, cadmium or copper on mercury distribution in rat tissues. *Toxicol Lett* 1983; 17: 349-54.
29. Chmielnicka J, Komsta-Szumka E, Zaręba G. Effects of Interaction Between 65Zn, Cadmium and Copper in Rats. *Biol Trace Elem Res* 1988; 17: 285-95.
30. Szymanska J, Chmielnicka J, Kałużyński A i wsp. Influence of bismuth on the metabolism of endogenous metals in rats. *Biomed Environ Sci* 1993; 6: 134-44.
31. Chmielnicka J, Sowa B. Cadmium interaction with essential metals (Zn, Cu, Fe), metabolism metallothionein and ceruloplasmin in pregnant rats and fetuses. *Toxic Environ Saf* 1996; 35: 277-81.

32. Chmielnicka J, Sowa B. Variations in metallothionein, Zn, Cu, Fe concentrations and ceruloplasmin activity in pragnet rat dams and their fetuses. *Ecotoxicol Environ Saf* 2000; 46: 130-36.
33. Suzuki Y. Metal-binding properties of metallothionein in extracellular fluids and its role in cadmium-exposed rats. *Elsevier Sciens Publishers* 1982; 9: 25-67.
34. Elinder CG, Nordberg M, Björk L. Cadmium, zinc and copper in rabbit kidney metallothionein-relation to kidney toxicity. *Environ Res* 1987; 42: 553.
35. Kjellström T. Effects on bone, on vitamin D, and calcium metabolism. *CRC Press* 1986; 2: 111-58.
36. Goyer RA. Toxic and essential metal interactions. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 37-50.
37. Clinton SK, Miller EC, Giovannucci EL. Nutrition in the etiology and prevention of cancer. In: Holland JF (eds.) *Cancer Medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997, 465-94.
38. Halatek T, Chmielnicka J. Ocena nefrotoksycznego działania kadmu u zwierząt doświadczalnych i ludzi; *Pos Hig Med Doś* 1993; 47: 375-91.
39. Chmielnicka J, Cherian MG. Environmental exposure to cadmium and factors affecting trace-element metabolism and metal toxicity. *Biol Trace Elem Res* 1986; 10: 243-62.
40. Sato M, Nagai Y. Effects of zinc deficiency on the accumulation of metallothionein and cadmium in the rat liver and kidney. *Arch Environ Contam Toxicol* 1989; 18: 587-93.
41. Chan HM, Cherian MG. Mobilization of hepatic cadmium in pregnant rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 120: 308-14.
42. Lamphere DN, Dorh CR, Reddy CS i wsp. Reduced cadmium body burden in cadmium-exposed calves fed supplemental zinc. *Environ Res* 1984; 33: 119-29.
43. Chmielnicka J, Bem EM, Brzeźnicka EA i wsp. The Tissue Disposition of Zinc and Copper following Repeated Administration of Cadmium and Selenium to Rats. *Environ Res* 1985; 37:419-24.
44. Halatek T. Zaburzenia metabolizmu metali endogennych (Zn i Cu) w ustroju szczura pod wpływem kadmu. Praca doktorska. Łódź, IMP 1991.
45. Nomiya K., Nomiya H. Reversibility of cadmium-induced health effects in rabbits. *Environ Health Perspect* 1984; 54: 201-11.
46. Piscator M. Long-term observations on tubular and glomerular function in cadmium-exposed persons. *Environ Health Perspect* 1984; 54: 175-79.
47. Kido T, Tsuritani I, Honda R i wsp. Selenium, zinc, copper and cadmium concentration in livers and kidneys of people exposed to environmental cadmium. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1988; 2: 101-4.
48. Roels HA, Lauwerys RR, Buched JP i wsp. Assessment of the filtration reserve capacity of the kidney in workers exposed to cadmium. *Br J Ind Med* 1991; 48: 365-74.
49. Lauwerys R, Bernard A. Early detection of the nephrotoxic effects of industrial chemicals; State of the art and future prospects. *Am J Ind Med* 1987; 11: 275-85.
50. Lauwerys R, Bernard A. Preclinical detection of nephrotoxicity: description of the tests and appraisal of thier health significance. *Toxicol Lett* 1989; 46: 13-29.
51. Tohyama C, Mitane Y, Kobayashi E i wsp. The relationship of urinary metallothionein with other indicators of renal dysfunction in people living in a cadmium-polluted area Japan. *J Appl Toxicol* 1988; 8: 15-21.
52. Shaikh ZA, Harnett KM, Perlin SA i wsp. Chronic cadmium intake results in dose-related excretion of metallothionein in urine. *Experientia* 1989; 45: 146-8.
53. Foulkes EC. On the mechanism of cellular cadmium uptake. *Biol Trace Element Res* 1989; 21: 195-200.
54. Abdulla M, Chmielnicka J. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Environ Resarch* 1990; 2: 34-37.
55. Tohyama C, Shaikh ZA, Nogawa K i wsp. Urinary metallothionein as a new index of renal dysfunction „Itai-Itai” disease proteins and other Japanese women envirosmentally exposed to cadmium. *Arch Toxicol* 1982; 50: 159-66.
56. Shaikh ZA, Ellis KJ, Subramanian KS i wsp. Biological monitoring for occupational cadmium exposure: the urinary metallothionein. *Toxicol* 1990; 63: 53-62.
57. Shaikh ZA, Kido T, Kito H i wsp. Prevelence of metallothioneinuria among the population living in the Kakehashi River basin in Japan-an epidemiological study. *Toxicol* 1990; 64: 59-69.
58. Shaikh ZA, Tohyama C. Urinary metallothionein as an indicator of cadmium body burden and of cadmium-induced nephrotoxicity. *Environ Health Perspect* 1984; 54: 171-74.
59. Chmielnicka J, Brzeźnicka E, Śniady A. Kidney concentrations and urinary excretion of mercury, zinc and cooper following the administration of mercuric chloride and sodium selenite to rats. *Arch Toxicol* 1986; 59): 16-20.
60. Chmielnicka J, Świetlicka E, Nasiadek M. Essential elements as early indicators of hexavalent chromium nephrotoxicity. *Eco Environ Safe* 2002; 56: 20-6.
61. Chmielnicka J, Nasiadek M. The trace elements in response to lithium intoxication in renal failure. *Eco Environ Saf* 2003; 55:178-83.
62. Chmielnicka J, Szymańska JA, Brzeźnicka EA i wsp. Changes in concentration of essential metals in kidney and urine as indices of gentamicin nephrotoxicity in female Wistar rats. *Pharmacol Toxicol* 1992; 71: 158-89.
63. Cadmium and certain cadmium compounds. In: IARC Monographs on the Evaluations of Carcinogenic Risks to Humans. Beryllium, Cadmium, Mercury and Exposures in the Glass anufacturing Industry. *IARC Monographs*, Vol 58, Lyon, France: WHO 1993.
64. Friberg L, Elinder CG, Kjellstorm T i wsp. Cadmium and health: a toxicological and epidemiological appraisal. Vol I and II, Boca Raton, Fla.: *CRC Press*, 1986.
65. McNeal JE, Reese JH, Redwine EA i wsp. Cribriform adenocarcinoma of the prostate. *Cancer* 1986; 58: 1714-19.
66. Feustel A, Wennrich R, Ditttrich H. Zinc, Kadmium and Selenium Concentrations in Separated Epithelium and Stroma from Prostatic Tissues of Different Histology. *Urol Res* 1987; 15: 161-63.
67. Lindegaard PM, Hansen SO, Christensen JEJ i wsp. The distribution of cadmium within the human prostate. *Biol Trace Elem Res* 1990; 25: 97-104.
68. Scardino PT, Weaver R, Huson MA. Early detection of prostate cancer. *Hum Pathol* 1992; 23: 211-22.
69. Waalkes MP, Rehm S, Perantoni A i wsp. Cadmium exposure in rats and tumor of the prostate. In: Cadmium in the human environment: Toxicity and carcinogenicity. Nordberg GF, Alessio L, Herter (eds.). Lyon: *IARC*; 1992; 390-400.
70. Waalkes MP, Coogan TP, Barter RA. Toxicological principles of metal carcinogenesis with special emphasis on cadmium. *Crit Rev Toxicol* 1992; 22: 175-201.
71. Coogan TP, Bare RM, Waalkes MP. Cadmium-induced DNA damage: effects of zinc pretreatment. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992; 113: 227-33.
72. Coogan TP, Bare RM, Bjornson EJ i wsp. Enhanced metallothionein gene expression protects against cadmium-induced genotoxicity in cultured rat liver cells. *J Toxicol Environ Health* 1994; 41: 129-41.
73. Coogan TP, Shiraishi N, Waalkes MP. Apparent quiescence of the metallothionein gene in the rat ventral prostate: Association with cadmium-induced prostate tumors in rats. *Environ Health Perspect* 1994; 102: 137-9.
74. Suzuki T, Yamanaka H, Nakajima K i wsp. Induction of metallothionein by CdCl₂ administration in rat prostate. *Prostate* 1993; 22: 163-70.
75. Hohadel JE, Shiraishi N, Coogan TP i wsp. Cadmium-induced genotoxicity in the absence of cytotoxicity in rat testicular cells is associated with minimal activity of the metallothionein gene. *Toxicologist* 1994; 14: 236.
76. Webber MM. Selenium prevents the growth stimulatory effects of cadmium on human prostatic epithelium. *Biochem Biophys Res Commun* 1986; 127: 871-77.
77. Webber MM. Normal, bening and malignant human prostatic epithelium: in vitro cell models for studies on the ethiology, treatment, and prevention of bening and malignant human prostatic neoplasia. *In vitro models for cancer research: Carcinoma of the prostate and testis*, eds. Webber MM and Sekely LI, 25-41, Boca Raton, Fla.: CRC Press, 1985, 25-41.
78. Komsta-Szumska E, Chmielnicka J. Organ and subcellular distribution of mercury in rats in the presence of cadmium, zinc, copper, and sodium selenite. *Clin Toxicol* 1981; 18: 1327-34.
79. Kazantzis G. Renal tubular dysfunction and abnormalities of calcium metabolism in cadmium workers. *Environ Health Perspect* 1979; 28: 155-60.
80. Catalona WJ, Scott WW. Cancer of the prostate. *Campbell's Urology* 1986; 1463-525.
81. Hardy JG, Kulatilake AE, Wastie ML. An index for monitoring bone metastases from carcinoma of the prostate. *Br J Radiol* 1980; 53: 869-73.
82. Whitmore WF Jr: Natural history and staging of prostate cancer. *Urol Clin North Am* 1984; 11: 209-20.
83. Markan A, Rimbach J, Pallauf J i wsp. *Pharm Ztg* 1997; 142: 111.
84. Feustel A, Wennrich R, Steiniger D i wsp. Zinc and cadmium concentration in prostatic carcinoma of difference histological grading in comparison to normal prostate tissue and adenofibromyomatosis (BPH). *Urol Res* 1982; 10: 301-3.
85. Feustel A, Wennrich R. Zinc and cadmium in cell fractions of prostatic cancer tissues of different histological grading in comparsion to BPH and normal prostate. *Urol Res* 1984; 12: 147-50.
86. Chmielnicka J, Daragó A. Stężenia Cd, Zn, Cu, Se w tkankach nowotworowych prostaty w zależności od wieku pacjenta. *VIII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego*, 8-11 września, Łódź 2002; 154.
87. Hsing W. Hormones and prostate cancer: what's next? *Epidemiological Reviews* 2001; 23: 42-58.

88. Zaichick VY, Sviridova TV, Zaichick SV. Zinc in the human prostate gland: normal, hyperplasia, cancerous. *Int Urol Nephrol* 1999; 29: 565-74.
89. Coltery P, Corbella J, Domingo JL i wsp. Metals Ions Biology and Medicine. *Proceedings of the Fourth International Symposium on Metals Ions in Biology and Medicine*; 19-22 May 1996; Barcelona (Catalonia), Spain, Volume 4.
90. Bosland MC. Male reproductive system. In *carcinogenesis: Target organ toxicology series*. Waalkes MP, Ward JM (eds.). New York: Raven Press; 1994; 339-402.
91. Waalkes MP, Rehm S. Carcinogenicity of oral cadmium in the male Wistar (WF/NCR) rat: Effect of chronic dietary zinc deficiency. *Fundam Appl Toxicol* 1992; 19: 512-20.
92. Tohyama C, Suzuki JS, Homma N i wsp. Regulation of metallothionein biosynthesis in genital organs of male rats. In *metallothionein III*. Suzuki KT, Imura N, Kimura M (eds.). Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag; 1993, 443-57.
93. Cousins RJ. Regulatory aspects of zinc metabolism in liver and intestine. *Nutr Rev* 1979; 37: 97-103.
94. Cousins RJ. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985; 65: 239-309.
95. Richards MP. Recent developments in trace element metabolism and function: Role of metallothionein in copper and zinc metabolism. *J Nutr* 1989; 119: 1062-70.
96. Cousins RJ. A role of zinc in the regulation of gene expression. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 307-11.
97. Prasad AS. Zinc deficiency in humans: a neglected problem. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 542-3.
98. Szreniawski Z. Polekowe zmiany stężenia cynku. *Farm Pol* 1998; 54: 1065-8.
99. Łoniewski J, Wójcicki J, Pawlik A. Wchłanianie z przewodu pokarmowego cynku podawanego w skojarzeniu z witaminą E. *Farm Pol* 1997; 53: 684-7.
100. Costello LC, Liu Y, Zou J i wsp. Evidence for a zinc uptake transporter in human prostate cancer cells which is regulated by prolactin and testosterone. *J Biol Chem* 1999; 274: 17499-504.
101. Liang JY, Liu Y, Zou J i wsp. Inhibitory effect of zinc on human prostatic cell growth. *Prostate* 1999; 40: 200-7.
102. Costello LC, Franklin RB, Liu Y i wsp. Zinc causes a shift toward citrate at equilibrium of the m-aconitase reaction of prostate mitochondria. *Inorg Biochem* 2000; 78: 161-165.
103. Costello LC, Franklin RB. The novel role of zinc in the regulation of prostate citrate metabolism and its implications in prostate cancer. *Prostate* 1998; 35: 285-96.
104. Costello LC, Franklin RB, Narayan P. Citrate in the diagnosis of prostate cancer. *Prostate* 1999; 38: 237-45.
105. Vaux D, Korsmeijer J. Cell Death in development. *Cell* 1999; 96: 245-54.
106. Hengartner MO. Apoptosis and the shape of death. *Dev Genet* 1997; 21: 245-48.
107. Szala S. Swoista indukcja apoptozy w komórkach nowotworowych. *Nowotwory* 2000; 50: 111-21.
108. Costello LC, Franklin RB. Bioenergetic theory of prostate malignancy. *Prostate* 1994; 25: 162-166.
109. Costello LC, Liu Y, Franklin RB i wsp. Zinc inhibitions of mitochondrial aconitase and its importance in citrate metabolism of prostate epithelial cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 28875-81.
110. Feng P, Liang JY, Li TL i wsp. Zinc induces mitochondrial apoptosis in prostate cells. *Mol Urol* 2000; 4: 31-5.
111. Costello LC, Franklin RB. The intermediary metabolism of the prostate: a key to understanding the pathogenesis and progression of prostate malignancy. *Oncology* 2000; 59: 269-82.
112. Behne D, Kyriakopoulos A, Weiss-Nowak C i wsp. Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins. *Analyst* 1995; 120: 823-5.
113. Behne D, Kyriakopoulos A, Weiss-Nowak C i wsp. Newly found selenium-containing proteins in the tissues of the rat. *Biol Trace Elem Res* 1996; 55: 99-100.
114. Griffin AC. The chemopreventive role of selenium in carcinogenesis. In: *Molecular interrelations of nutrition and cancer*. Arnott MS, van Eys J, Wang YM (eds.). New York, NY: Raven Press; 1982, 401-8.
115. Spallholz JE. Selenium and the prevention of cancer: *The bulletin of selenium-tellurium Development association*, Brussel, October 2001.
116. Salonen JT. Selenium and human cancer. *Ann Clin Res* 1986; 18: 18-21.
117. Ghanter HE, Lawrence JR. Chemical transformations of selenium in living organisms. Improved forms of selenium for cancer prevention. *Tetrahedron* 1997; 53: 12229-310.
118. Spallholz JE, Shriver BJ, Reid TW. Dimethyldiselenide and methylseleninic acid generate superoxide in an in vitro chemiluminescence assay in the presence of glutathione: implications for the anticarcinogenic activity of L-selenomethionine and L-Se-methylselenocysteine. *Nutr Cancer* 2001; 40: 34-41.
119. Schrauzer GN. Selenium. Mechanistic aspects of anticarcinogenic action. *Biol Trace Elem Res* 1992; 33: 51-62.
120. Brooks JD, Metter EJ, Chan DW i wsp. Ballentine Carter: Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. *J Urol* 2001; 166: 2034-8.
121. Lockitch G. Selenium: clinical significance and analytical concepts *Crit Rev Clin Lab Sci* 1989; 27: 483-541.
122. Neve J. Physiological and nutritional importance of selenium. *Experientia* 1991; 47: 187-93.
123. Alexander J, Norseth T. The effect of selenium on the biliary excretion and organ distribution of mercury in the rat after exposure to methyl mercuric chloride. *Acta Pharmacol Toxicol* 1979; 44: 168-76.
124. Alexander J, Norseth T. The effect of selenium on the biliary excretion and organ distribution of mercury in the rat after exposure to methyl mercuric chloride. *Acta Pharmacol Toxicol* 1979; 44: 168-76.
125. Flora SJ, Singh S, Tandon SK. Role of selenium in protection against lead intoxication. *Acta Pharmacol Toxicol* 1983; 53: 28-32.
126. Chmielnicka J, Bem EM, Kaszubski P. Organ and subcellular distribution of selenium in rats exposed to cadmium mercury and selenium. *Environ Res* 1983; 31: 273-8.
127. Chmielnicka J, Zaręba G, Witasik M i wsp. Zinc selenium interaction in rat. *Biol Trace Elem Res* 1988; 15: 267-76.
128. Platz EA, Helzlsouer KJ. Selenium, zinc, and prostate cancer. *Epidemiol Rev* 2001; 23: 93-101.
129. Milner JA. Effect of selenium on virally induced and transplantable tumor models. *Fed Proc* 1985; 44: 2568-72.
130. Clark LC, Dalkin B, Krongrad A i wsp. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. *Br J Urol* 1998; 81: 730-4.
131. Giovannucci E. Nutritional factors in human cancers. *Adv Exp Med Biol* 1999; 472: 29-42.
132. Combs GF, Gray WP. Chemopreventive agents: Selenium. *Pharmacol Ther* 1998; 79: 179-192.
133. Spallholz JE. Freeradical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity. *Biomed Environ Sci* 1997; 10: 260-70.
134. Wakabayashi T, Spodnik JH. Structural changes of mitochondria during free radical-induced apoptosis. *Folia Morphol* 2000; 59: 61-75.
135. Zhong W, Oberley TD. Redox-mediated effects of selenium on apoptosis and cell cycle in the LNCaP human prostate cancer cell line. *Cancer Res* 2001; 61: 7071-8.
136. Menter DG, Sabichi AL, Lippman SM. Selenium effects on prostate cell growth. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 1171-82.
137. Yang M, Sytkowski AJ. Differential expression and androgen regulation of the human selenium-binding protein gene hSP-56 in prostate cancer cells. *Cancer Res* 1998; 58: 3150-3.
138. Ripple MO, Henry WF, Rago RP et al. Prooxidant – antioxidant shift induced by androgen treatment of human prostate carcinoma cells. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 40-8.
139. Spallholz JA. On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free Radical Biology and Medicine* 1994; 17: 45-64.
140. Abdullaev FI, MacVicar C, Frankel GD. Inhibition by selenium of DNA and RNA synthesis in normal and malignant human cells in vitro. *Cancer Lett* 1992; 65: 43-9.
141. Venkateswaran V, Klotz L, Fleshner NE. Selenium modulation of cell proliferation and cell cycle biomarkers in human prostate carcinoma cell lines. *Cancer Res* 2002; 62: 2540-5.
142. Dipple A, Pigott MA, Milner JA. Selenium Modifies Carcinogen Metabolism by Inhibiting Enzyme Induction. *Biol Tr Elem Res* 1986; 10: 153-157.
143. Beck MA. Selenium and host defense towards viruses proceedings of the nutrition society. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 707-11.
144. Clark LC, Combs GF, Turnbull BW i wsp. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA* 1996; 276: 1957-63.
145. Klein EA, Thompson IM, Lippman SM i wsp. Select: the next prostate cancer prevention trial. *J Urol* 2001; 166: 1311-5.

Otrzymano: 9 grudnia 2002 r.

Przyjęto do druku: 27 czerwca 2003 r.