

Ağır Metallerin Endokrin Bozucu Etkileri

The Endocrine Disrupting Effects of Heavy Metals

 Selinay Başak ERDEMLİ KÖSE^{a,b},
 Aylin BALCI^a,
 Pınar ERKEKOĞLU^a

^aFarmasötik Toksikoloji AD,
 Hacettepe Üniversitesi
 Eczacılık Fakültesi,
 Ankara, TÜRKİYE

^bKimya Bölümü,
 Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
 Fen-Edebiyat Fakültesi,
 Burdur, TÜRKİYE

Received: 05.02.2019

Received in revised form: 18.04.2019

Accepted: 02.05.2019

Available online: 06.05.2019

Correspondence:

Pınar ERKEKOĞLU
 Hacettepe Üniversitesi
 Eczacılık Fakültesi,
 Farmasötik Toksikoloji AD, Ankara,
 TÜRKİYE/TURKEY
 erkekp@yahoo.com

ÖZET Kimyasal özellikleri ve biyolojik işlevleri açısından oldukça farklılık gösteren ağır metaller; toprak erozyonu, yer kabuğundaki doğal ayrışmalar, madencilik, endüstriyel ve kentsel atık sular, kanalizasyon deşarjı, bitkilere uygulanan pestisit veya insektisitler gibi pek çok kaynaktan çevreye yayılabilmektedirler. Doğada kalıcılıkları yüksektir; bu nedenle topraklarda ve bitkilerde birikmektedirler. Ağır metaller önemli çevresel kirleticilerdir ve bunların toksisitesi ekolojik, evrimsel, besinsel ve çevresel nedenlerden dolayı ciddi bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir. Çalışmalar, ağır metallerin spesifik hücresel yollar üzerinden endokrin bozucu maddeler olarak hareket edebileceğine dair çok sayıda kanıt ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalarda, ağır metal maruziyetine bağlı olarak erkek üreme sisteminde bozukluklar (sperm parametrelerinde ve testis dokusunda hasar, spermatogenezin bozulması, plazma üreme hormon düzeylerinde değişiklikler), dişi üreme sisteminde bozukluklar (yumurtalık doku hasarı, üreme hormon düzey değişimleri, spontan düşük ve ölü doğum riski ve doğan yavrularda anomaliler), erken ya da geç ergenlik, tiroid hormon düzeylerinde değişim ve nöroendokrin sistemde ters etkiler gibi önemli toksik etkilerin görülebileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada, literatürdeki in vitro ve in vivo araştırmalar ışığında ağır metallerin endokrin bozucu etkileri sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ağır metaller; endokrin bozucular; kadmiyum; arsenik; kurşun; cıva

ABSTRACT Heavy metals, which differ considerably in terms of their chemical properties and biological functions, can spread to the environment from many sources such as soil erosion, natural disintegration in the earth's crust, mining, industrial and urban wastewater, sewage discharge, pesticides applied to plants and insecticides. Their permanence in nature is high and they accumulate in soils and plants. Heavy metals are important environmental pollutants and their toxicity is considered to be a serious public health problem due to ecological, evolutionary, nutritional and environmental reasons. Studies have shown a great deal of evidence that heavy metals can act as endocrine disruptors through specific cellular pathways. According to the studies, it has been concluded that important toxic effects such as anomalies in male reproductive system (Damage in sperm parameters and testis tissue, changes in spermatogenesis, changes in plasma reproductive hormone levels), disorders in female reproductive system (Ovarian tissue damage, reproductive hormone level changes, spontaneous abortion, abnormalities in the offspring and stillbirth risk), early or late adolescence, changes in thyroid hormone levels and adverse effects in neuroendocrine system can be seen due to heavy metal exposures. In this review, it is aimed to present the endocrine disrupting effects of heavy metals in the light of in vitro and in vivo studies.

Keywords: Heavy metals; endocrine disruptors; cadmium; arsenic; lead; mercury

Ağır metaller, kimyasal özellikleri ve biyolojik işlevleri açısından oldukça farklılık gösteren heterojen bir element grubudur.¹ Periyodik tabloda dört ve üzeri periyotlardaki grup 3-16 arasındaki elementler, 5 g/cm³ ve üzeri yoğunluğa sahip olduklarından “ağır metaller” olarak tanımlanmaktadır.² Ağır metaller, dünyanın varoluş sürecinde oluştuklarından, çevremizde yaygın olarak bulunmaktadır.^{1,2}

Toplumların gelişmesi ve ilerlemesi, endüstriyel üretimlere ve çevresel düzenlemelere bağlıdır. Bu süreçte ağır metallerin fiziksel, kimyasal ya da radyoaktif özelliklerinden faydalanılması çevrede yüksek dağılım göstermelerinin diğer bir nedenidir. Ağır metallerin doğada kalıcılıkları yüksektir; bu nedenle topraklarda ve bitkilerde birikmektedirler.^{1,2} Ağır metaller çevreye toprak erozyonu, yer kabuğundaki doğal ayrışmalar, madencilik, endüstriyel ve kentsel atık sular, kanalizasyon deşarjı, bitkilere uygulanan pestisit veya insektisitler gibi pek çok kaynaklardan yayılabilmektedirler. İnsanlar üzerinde önemli istenmeyen etkileri olduğu bilinen ağır metallere maruziyetin, günümüzde dünyanın birçok yerinde artarak devam ettiği bilinmektedir. Ağır metaller, önemli çevresel kirleticilerdir ve bunların toksisitesi ekolojik, evrimsel, besinsel ve çevresel nedenlerden dolayı ciddi bir halk sağlığı problemi olarak kabul edilmektedir. Atık sularda en sık rastlanan ağır metallerden başlıcaları insan sağlığı ve çevre için önemli düzeyde risk oluşturduğu bilinen kadmiyum, arsenik, cıva ve kurşundur.³

Salgılarını sentezleyen, saklayan ve doğrudan kana veren özelleşmiş hücrelerden oluşan endokrin bezler, fizyolojik homeostazı korumak için iç ve dış ortamdaki değişikliklere yanıt vermektedirler. Bu bezlerin salgıları “hormon”lar olarak bilinmektedir. Hormonlar pekçok farklı yapıda (polipeptid, steroid gibi) olabilmektedir. Pek çok ksenobiyotik, hormon sentez yollarındaki spesifik enzimleri inhibe ederek salgı bezlerinde toksisiteye neden olmaktadır. Diğer bazı bileşikler ise endokrin sistem üzerindeki toksik etkilerini daha az belirgin mekanizmalarla göstermektedirler. Bir endokrin bezdeki doğrudan toksisite, bezin fazla veya az çalışmasına neden olabilmekte ya da endokrin ve endokrin olmayan hedef dokular arasındaki etkileşimleri etkileyebilmektedir.⁴ Endokrin bozucular; vücuttaki homeostazın sürdürülmesinden ve gelişimsel süreçlerin düzenlenmesinden sorumlu olan hormonların üretimi, salınımı, taşınması, metabolizması, bağlanması veya eliminasyonunu etkileyerek, doğal işleyişi bozan ekzojen maddelerdir.⁵ Endokrin bozucular, sağlıklı bir organizmada endokrin sistemin bozulmasına neden olur iken, etkilediği hor-

monların üreme sistemi üzerinde olası ters etkileri ile ileriki jenerasyonlarda toksisiteye yol açabilmektedirler.⁵

Ağır metallerin organizmalarda çok çeşitli sağlık sorunlarına, hastalıklara veya hasarlara neden olabileceği bilinmektedir ve bu etkilerin toksisite mekanizmalarının aydınlatılması için yapılan araştırmalar uzun yıllardır devam etmektedir. Son yıllarda ağır metallerle ilişkili toksikolojik sorunlar üzerinde çalışılır iken, endokrin sistem üzerindeki etkilerine odaklanıldığı dikkat çekmektedir. Bu maddelerin endokrin sistem üzerindeki toksik etkilerinin mekanizmaları hâlâ tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak, öncelikle steroid ve tiroid hormonlarını etkiledikleri düşünülmektedir. Fetal dönemde, büyüme ve gelişme süreçlerinde ağır metallere maruziyetin sonuçlarının daha ciddi olabileceği bilinmektedir.⁴ Deney hayvanları üzerindeki çalışmalar kadmiyum, arsenik, cıva, nikel, kurşun ve çinko gibi ağır metallerin de endokrin bozucu etkileri olduğunu ve steroid hormonların (androjenler, östrojenler ve glukokortikoidler) biyolojik aktivitesini taklit edebildiklerini göstermektedir.^{2,6}

Bu çalışmada, insan sağlığı ve çevre için önemli düzeyde risk oluşturduğu bilinen ağır metallerin endokrin bozucu etkilerinden söz edilecek, konu ile ilgili yapılmış hücre kültürü, hayvan ve insan çalışmalarından söz edilecektir.

KADMIYUM

Kadmiyum kontaminasyonunun ana kaynakları endüstriyel aerosoller, maden çıkarılan bölgelerdeki atık sular, fosfat bazlı gübreler, kadmiyum içeren pestisitler, nikel/kadmiyum piller, pigmentler ve plastiklerdir. Tütün dumanı da kadmiyum için en yaygın maruziyet yollarından biridir. Biyolojik aktivitesi ve buna bağlı olarak endokrin bozucu etkileri üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış, düşük seviyelerde maruziyetin bile erkek ve dişi üreme sisteminde steroid hormonların aktivitesini engellediği bildirilmiştir.^{2,6}

A. İN VİTRO ÇALIŞMALAR VE HAYVAN ÇALIŞMALARI

Kadmiyumla indüklenen testiküler nekroz üzerine 1919 yılında yayımlanmış olan ilk çalışmadan günümüze dek kadmiyumun testis üzerindeki toksik

etkileri ile ilgili yüzlerce araştırma bulunmaktadır.⁷ Sıçan Leydig hücreleri üzerinde kadmiyumun sitotoksik bulunan ($>10 \mu\text{M}$) konsantrasyonlarda steroidogenez için toksik olduğu bildirilmiştir.⁸ Ancak, yine sıçan Leydig hücreleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada, $100 \mu\text{M}$ kadmiyum maruziyetinin hücre canlılığında hiçbir değişiklik olmaksızın testosteron üretimini iki katına çıkardığı belirtilmiştir.⁹

Kadmiyum sistein, glutamik asit ve histidine bağlanmaktadır. Kadmiyum aynı arsenik gibi bu aminoasitlerden özellikle de sisteini tercih etmektedir. Kadmiyumun östrojen reseptörüyle etkileşime girerken de bu aminoasit üzerinden aynı arsenik gibi benzer bir kimyasal yolağı izliyor olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, kadmiyumun çevreden maruz kalınabilecek konsantrasyonlarda insan prostat kanser hücrelerinde androjen reseptörlerine de bağlandığı ve reseptörü aktive ederek hücre büyümesini uyardığı bildirilmiştir.¹⁰

Kadmiyumun hem östrojen hem androjen reseptörünü bağlayan bir ağır metal olması ve üreme sistemindeki birçok dokuda iki tip reseptörün de bulunması, bu metale maruziyetin göreceli lokalizasyona ve farklı dokularda bu iki steroid reseptörünün aktivasyonuna bağlı olarak farklı yanıtlar meydana getirilebileceğini göstermektedir.² Kadmiyumun MCF-7 meme kanseri hücre gen transkripsiyonunu uyardığını ve hücre büyümesini artırdığını gösteren başka çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin; kadmiyum ile uyarılmış MCF-7 hücre proliferasyonunun pineal bezden salınan indol yapıdaki hormon olan melatonin ile bloke edilebileceği bildirilmiştir.¹¹ Kadmiyum maruziyetinin hem östrojen reseptör-a [estrogen receptor a (ERa)], hem de östrojen reseptör-b (ERb) yı anlamlı düzeyde aktive ettiği belirtilmiştir. Ayrıca, ERa üzerinden (östrojenlerle uyarıya verilen yanıtla aynı olarak) transkripsiyon faktörü aktivator protein 1'in de kadmiyum maruziyetiyle aktive olduğu bildirilmiştir.^{12,13}

Kadmiyuma maruz bırakılan insan meme kanseri hücrelerinde (MCF-7 hücre hattı) östrojenik yanıtlar gözlemlendiği; kadmiyum maruziyetinin MCF-7 hücrelerinin büyümesini uyardığı, östrojen reseptörü sayısını azalttığı, progesteron reseptör

ekspresyonunu ve geçici transfeksiyon deneylerinde östrojen yanıtını uyardığı bildirilmiştir.¹⁴ Çalışmalarda, kadmiyum yerine yine artı iki değerlikte bir eser element olan çinko ile benzer yanıtların elde edilmediği; bu nedenle durumun kadmiyumun ER ile doğrudan etkileşiminin sonucu ortaya çıktığı belirtilmiştir.²

Piasek ve Laskey Sprague-Dawley sıçan yu-murtalıklarında in vitro kadmiyum maruziyetinin steroidogenez üzerindeki doğrudan etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, proöstrus dönemindeki sıçanlarda ve gebe dişilerde progesteron ve testosteron üretiminin etkilendiğini, östradiol üretiminin ise etkilenmediğini bildirmişlerdir.¹⁵

Yapılan çalışmalarda, kadmiyumun deney hayvanlarına yüksek dozda tek bir uygulama ile üreme sistemi üzerinde toksik bir madde olduğu kanıtlanmıştır.^{16,17} Düşük çevresel dozlarında da kadmiyumun endokrin sistem üzerinde ciddi yan etkileri olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Tek ve düşük doz (0, 5 ya da $1,0 \text{ mg/kg}$) kadmiyumun erişkin sıçanlarda olgunlaşmasını tamamlayan spermatozoanın seminfer tübül lümeninden atılmasında aksaklıklara, sperm sayısında ve motilitesinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir.^{18,19}

Kadmiyuma maruziyetin (14 gün boyunca $1,6-152 \mu\text{mol/kg}$ arasında değişen dozlarda) erişkin sıçanlarda sperm sayısında anlamlı düşüşe ve serum testosteron düzeylerinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir.²⁰ Başka bir çalışmada, kadmiyumun (bir, dört, sekiz hafta boyunca 0, 5, 50 ya da 100 mg/L) sıçanlara içme suyuyla verilmesinin doz-bağımlı olarak sperm motilitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.²¹ Birçok organ üzerinde etkisini göstermediği dozlarda bile, kadmiyumun 24-48 saat arasında testisler üzerinde hasar yarattığı belirtilmiştir. Kadmiyumun kan-testis bariyerini geçebildiği, in vitro Sertoli hücre kültürlerinde ve spermatositlerde, hücreler arasındaki sıkı bağlantı bölgelerinde (Zonula Occludens) hasara neden olduğu ve bu şekilde hücre içine girdiği bildirilmiştir.²² Ayrıca, kadmiyumun, canlılığı etkilemeden Leydig hücreleri tarafından insan koryonik gonadotropin hormonu-uyarımli testosteron üretimini in vitro ve in vivo azalttığı da belirtilmiştir.^{9,23} Bu

çalışmaların sonuçlarına göre, Sertoli ve Leydig hücrelerinin kadmiyumun yan etkileri için hedef hücreler olduğu görülmektedir. Başka bir çalışmada da kadmiyumun hipotalamus ve hipofizde birike-rek prolaktin seviyelerini düşürdüğü bildirilmiştir.²⁴

Tütün ürünleri kaynaklı kadmiyum maruzi-yeti ile erkek infertilitesi arasındaki ilişki de uzun zamandır önem verilen araştırma konuları arasında yer almaktadır. Tütüne maruz kalan kemirgenlerin folikül sıvısında ve plasentalarında yüksek Cd²⁺ konsantrasyonları ve düşük progesteron düzeyleri görüldüğü ve hamsterlerin tütün dumanına gerçek çevresel düzeylerde maruz kalmasının üreme yapı-ları üzerinde ciddi hasarlara neden olduğu bildiril-miştir.²⁵

Sıçanlarda akut ve yüksek dozda kadmiyum maruziyetinin dişi üreme sisteminde çeşitli noktaları etkilediği, yumurtalık ve uterus hemorajik değişiklikler veya kalıcı östrus ve yumurtlama bo-zuklukları ile sonuçlandığı gösterilmiştir.²⁶ Sıçan-larda, kadmiyum oksit tozlarına maruz kalmanın, östrus döngüsünün süresini artırdığı, kandaki lüte-inleştirici hormon seviyelerini düşürdüğü ve yu-murtlamayı inhibe ettiği bildirilmiştir.²⁷

Kadmiyum varlığında testosteron artışının in vitro olarak gözlemlenmesiyle uyumlu olarak, kro-nik oral kadmiyum maruziyetinin (İçme suyuyla 0, 50, 100, 200 ppm dozlarda 1, 3, 6 aylık maruziyet) sıçanlarda plazma testosteron seviyesini arttırdığı bildirilmiştir.²⁸ Tersine subkütan enjeksiyonla kad-miyum verilen erişkin sıçanlarda ise plazma testos-teron seviyelerinde düşüş olduğu belirtilmiştir.²⁹ Bu çalışmalar arasındaki çelişki, kadmiyumun tes-tiküler androjen üretimini maruziyet yoluna bağlı olarak uyardığını ya da inhibe ettiğini gösterebil-mektedir.²

Kadmiyumun östrojenik etkili olduğuna işaret eden önemli çalışmalardan birinde, kadmiyum (5 µg/kg i.p) verilen dişi sıçanlarda erken ergenlik, rahim ağırlığında artış ve gelişmiş meme büyümesi görüldüğü bildirilmiştir.³⁰ Kadmiyum maruziyeti-nin progesteron reseptörü ve tamamlayıcı bileşen C3 gibi östrojen düzenleyici genleri indüklediği, ayrıca yan dalların ve alveolar tomurcukların olu-

şumundaki artış ile meme bezi gelişimini artırdığı belirtilmiştir. Dişi yavruların prenatal dönemde kadmiyuma maruz kalmasının ergenlik dönemine erken ulaşmalarına, meme bezlerinde terminal uç tomurcukları sayısında ve epitel alanda artışa neden olduğu bildirilmiştir. Önemli olarak kadmi-yumun uterus ağırlığı, meme bezi yoğunluğu ve uterus ve memede progesteron reseptör ekspres-yonu üzerindeki etkilerinin antiöstrojenik etkili ICI 182,780 ile birlikte verildiğinde bloke olduğu belirtilmiştir.³⁰ Bu in vivo çalışma, kadmiyum kay-naklı etkilerin bir ICI 182,780 tarafından tersine çevrilebildiğini ortaya koyarak, kadmiyumun bir endokrin bozucu ve metalloöstrojen olduğunu des-tekleyen en güçlü kanıt olarak gösterilebilmektedir. Bütün ağır metaller içinde ER ile etkileşimi en iyi açıklanmış olan metal kadmiyumdur.²

Kadmiyumun kemirgenlerde; gonadotropinler, prolaktin, adrenokortikotropik hormon, bü-yüme hormonu ve tiroid stimüle edici hormon [thyroid-stimulating hormone (TSH)] da dâhil hi-pofiz hormonlarının azalmasına sebep olduğu ve bu hormonların plazma konsantrasyonlarının kadmi-yum klorüre maruz bırakılan Sprague-Dawley sı-çanlarda düştüğü bildirilmiştir.³¹ Psödo-gebe sıçanlarda ve hem sıçanlardan hem de insanlardan elde edilen granülosa hücre kültürlerinde Cd²⁺'nin progesteron sentezini inhibe ettiği belirtilmiş-tir.^{15,32,33}

Tüm bu sonuçlar, kadmiyumun endokrin sis-tem üzerinde hem doğrudan (testiküler ve hipota-lamus-hipofiz toksisitesi ile) hem de dolaylı (değiştirilmiş hormon salgısı yoluyla) etkileri oldu-ğunu ortaya koymaktadır.²²

B. İNSANLAR ÜZERİNDEKİ ÇALIŞMALAR

Kadmiyuma mesleki maruziyetin üreme sistemi üzerine etkileri ile ilgili çok az sayıda çalışma bu-lunmaktadır. Bu nedenle Toksik Maddeler ve Has-talıklar Kayıt Ajansı, solunumla kadmiyum maruziyetinin insan endokrin sistemi üzerindeki etkilerini belirlemek için yeterli kanıta ulaşama-mıştır.^{22,34} Bununla birlikte, yapılan birkaç çalışma, düşük doz kadmiyum maruziyetinin erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerini incelemiş ve semen kalitesinin azalması ve/veya reproduktif hormon

düzeylerinin değişmesi gibi sonuçların ortaya çıktığını göstermiştir.²²

Kan kadmiyum düzeyleri 0,78 µg/L-1,31 µg/L arasında değişen ve infertilite kliniğine başvuran sarı ırklı erkekler üzerinde yapılan bir çalışmada, kan kadmiyum düzeyi ile sperm yoğunluğu ($r=-0,24$), ejakülat başına sperm sayısı ($r=-0,27$) ve semen hacmi ($r=-0,29$) arasında negatif korelasyon olduğu, kan kadmiyum düzeyinin ayrıca semen hacmi ile negatif ($r=-0,37$), sperm orta parçası defektleri ($r=0,42$) ve olgunlaşmamış formların sayısı ile ($r=0,47$) anlamlı pozitif korelasyon gösterdiği de bildirilmiştir. Düşük sperm motilitesi olan erkeklerde, normal sperm motilitesi olan erkeklere göre anlamlı derecede daha yüksek kadmiyum düzeyleri ölçülmüştür.^{35,36}

Nijerya'da sigara içen, alkol tüketen, steroid veya infertilite ilaçları kullanan veya spermatogenez bozabilecek tıbbi rahatsızlıkları olan erkekler hariç olmak üzere, infertilite kliniğine başvuran 60 erkek üzerinde bir çalışma yürütülmüştür. Çalışma sonunda, ortalama serum kadmiyum düzeyinin spermi olmayan ya da düşük spermi olan erkeklerde normal spermi olan erkeklere göre daha yüksek olduğu, ortalama seminal kadmiyum düzeylerinin ise sadece spermi olmayan erkeklerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Lütenize edici hormon, folikül stimüle edici hormon (FSH), testosteron ve prolaktin düzeylerinin, düşük spermi veya spermi olmayan erkeklerde anlamlı olarak daha yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Bu erkeklerin mesleki maruziyetleri olmasa da araştırmacılar, Nijerya'nın özellikle kadmiyum ve kurşun açısından oldukça kirli olduğunu rapor etmişlerdir.³⁷

Hindistan'da infertilite kliniğine başvuranlar üzerinde yürütülen benzer bir çalışmada, fertil erkeklerde medyan seminal sıvı kadmiyum düzeyinin 0,5 µg/L, infertil erkeklerin ise 10,4 µg/L olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kadmiyumun az hareketli spermi olan infertil erkeklerde sperm motilitesi ve sperm konsantrasyonu ile ($r=-0,50$ ve $r=-0,63$) anlamlı negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.³⁸

Infertilite kliniğine başvuran medyan kan kadmiyum düzeyi 0,85 µg/L olan 123 Hırvat erkek üzerinde yapılan bir çalışmada da kan kadmiyum

düzeyi ile testis boyutu arasında anlamlı negatif ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada, kan kadmiyum düzeyi ile FSH ($B=0,194$), testosteron ($B=0,188$), östradiol ($B=0,271$) ve prostat fonksiyonunun bir göstergesi olan seminal sıvı asit fosfataz seviyeleri arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu belirtilmiştir.³⁹

Bu çalışmaların aksine, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Michigan'daki infertilite kliniklerine başvuran 219 erkek hastanın sperm parametrelerinde kan kadmiyum düzeylerinin hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür.⁴⁰ Ancak, bu durumun, çalışmadaki medyan kan kadmiyum düzeyinin (0,20 µg/L) diğer çalışmalardan daha düşük olmasıyla ilgili olabileceği düşünülebilmektedir.²²

Hırvatistan'ın Zagreb şehrinde yapılan bir çalışmada, 98 sanayi işçisi (medyan kan kadmiyum seviyesi=3,40 µg/L) ve kadmiyuma mesleki olarak maruz kalmayan 51 erkeğin (medyan kan kadmiyum seviyesi=1,83 µg/L) kan kadmiyum düzeyleri ile patolojik sperm ($r=0,158$), LH ($r=0,158$) ve testosteron ($r=0,1295$) düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif ve toplam çalışma popülasyonunda kan kadmiyum düzeyi ile prolaktin ($r=-0,168$) düzeyi arasında negatif bir korelasyon bulunmuştur.⁴¹

İnsanlarda yiyecekler ya da mesleki maruziyet yoluyla alınan kadmiyum, testosteron ve estradiol seviyelerinde artışla ilişkilendirilmiştir.^{39,42} Menopoz sonrası kadınlarda bile idrar kadmiyum seviyeleri ve anlamlı düzeyde artmış serum testosteron seviyeleri arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.⁴³

Bu çalışmalar, birlikte ele alındığında orta ve yüksek düzeylerde çevresel kadmiyum maruziyetinin sperm parametrelerini olumsuz etkilediği ve kan hormon düzeylerini değiştirdiği ortaya konmuştur. Bununla birlikte, çok az sayıda çalışma, sigara içimi gibi potansiyel tehlike faktörlerini de kapsamakta ve farklılıkların saptanması için yeterince büyük çalışma popülasyonu sağlamaktadır. Hayvan deneyleri, semen parametrelerine düşük kadmiyum maruziyetinin olumsuz etkilerini kuvvetle desteklerken, bu ilişkiyi insanlarda açıklığa kavuşturmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu bildirilmiştir.²²

ARSENİK

Arsenik; Paul Erlich tarafından keşfedilmiş, bir hastalığın (sifiliz) tedavisi için kullanılan ilk ağır metaldir. Ancak, kasıtlı zehirlenme vakalarında tarih boyunca sıkça kullanılmıştır. Günümüzde, yarı iletken üretiminde elektron kaynağı ve pestisit olarak kullanılan bir ağır metaldir. En büyük çevresel maruziyet kaynağı, arsenikle kirlenmiş içme sularıdır. 1980'li yıllarda arsenikli suları tüketen insanlarda deri, akciğer, idrar kesesi, böbrek ve karaciğer kanserleri görülmesi ile ilgili epidemiyolojik verilere günümüzde ulaşılabilmektedir.² Arseniğin güçlü bir endokrin bozucu olarak; glukokortikoidler, mineralokortikoidler, progesteron ve androjenler için steroid hormon reseptörleriyle etkileşime girerek gen düzenlemesini değiştirdiği düşünülmektedir.⁴⁴

A. İN VİTRO VE HAYVAN ÇALIŞMALARI

Endokrin bozucu kimyasal maddelerin östrojenik aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan MCF-7 meme kanseri hücrelerinde, düşük mikromolar konsantrasyonlarda arsenitin hücre proliferasyonunu artırdığı, progesteron reseptörü ve ERa'nın mRNA ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Antiöstrojen ICI 182,780 ya da fluvestrantın arsenitin (As3+) bu etkilerini engellediği belirtilmiş, bağlanma ve reseptör aktivasyon yöntemleri kullanılarak arsenitin östrojen reseptörünün hormon bağlayıcı domain ile etkileşime girerek etkisini gösterdiği saptanmıştır.² Bundan farklı olarak, akut promiyelositik lösemi için onaylanmış bir ilaç olan arsenik trioksitinin, MCF-7 hücre proliferasyonunu östrojen reseptörünün ligand bağlayıcı domainine bağlanmadan engellediği, bunu östrojen reseptör sinyal yolağını etkileyerek yaptığı belirtilmiştir. Bu nedenle, arseniğin biyolojik aktivitesinin, kimyasal formuna bağlı olduğu ileri sürülmektedir.⁴⁵

Yüz µM arsenitin steroid bağlayıcı bölgedeki glukokortikoid reseptörüne bağlandığı, ancak bu yüksek konsantrasyonda MCF-7 hücrelerinde progesteron, androjen veya östrojen reseptörlerine bağlanmak için rekabet etmediği, aksine toksik olmayan 0,3-3,3 µM arasındaki arsenitin insan meme

kanseri ve sıçan hepatoma hücrelerinde glukokortikoid reseptör aracılı gen transkripsiyonunu inhibe etmek için glukokortikoid reseptörü ile etkileştiği belirtilmiştir.^{46,47}

Arsenitin, ER ile etkileşmesi durumunda olduğu gibi, glukokortikoid reseptörünün visinal ditiyollerle de etkileştiği, düşük mikromolar konsantrasyonlarda (1 µM) sıçan ve insan hücrelerinde gen ekspresyonunu değiştirmek için ER ve glukokortikoid reseptörüne bağlandığı; 100 µM üzeri konsantrasyonlarda, reaktif oksijen türlerinin üretiminde artışa yol açarak DNA ve proteinlerin yapısını etkileyerek toksisite oluşturduğu bildirilmiştir.⁴⁸

Farelere, içme suyunda en sık bulunan arsenik formu olan arsenit (53,39; 133,47; 266,95 ve 533,9 µmol/L) içeren su 35 gün boyunca verilmiş, arsenik seviyelerinin testis, epididimis ve seminal veziküllerde arttığı belirlenmiştir. Arsenitin dozbağımlı bir şekilde sperm motilitesinde ve toplam epididimal sperm sayısında anlamlı azalmaya ve morfolojik anomali görülen sperm yüzdesinde artışa yol açtığı bildirilmiştir. Testosteron metabolizmasında rol oynayan bir enzim olan 17b-hidroksisteroid dehidrogenaz (17b-HSD)'ın aktivitesinin kontrole oranla yarıya düştüğü belirtilmiştir.⁴⁹

Subkütan 3 mg/kg arsenik trioksit uygulanan farelerin testislerinde ve plazmalarında arsenik biriktiği; spermatogenezin inhibe olduğu, toplam sperm sayısı, sperm motilitesi ve sperm canlılığının anlamlı olarak azaldığı belirtilmiştir. Plazma ve testis testosteron seviyeleri ile plazma lüteinize edici hormon seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir.⁵⁰ Sodyum arsenit (20-40 mg/L) içeren içme suyu verilen farelerde, 3b-HSD ve 17b-HSD enzimlerinin hem ekspresyonunun hem de aktivitelerinin azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca, arseniğe maruz bırakılan farelerin testis dokusu glutatyon düzeylerinde düşüş ve protein oksidasyonunun bir göstergesi olan karbonil düzeylerinde artış olduğu bildirilmiştir.⁵¹

Birçok çalışma, hipotalamus ve beynin arsenik etkilerinin başlıca hedef organları olabileceğini ve buna bağlı olarak hormon salgılanmasında bozulmaya ve sperm sayısında azalmaya yol açabileceğini düşündürmektedir.⁵²⁻⁵⁴ Bununla birlikte testis, epididimis, seminal veziküller ve ventral prostatta

saptanan arsenik miktarları, testiküler dokunun da doğrudan etkilenebileceğini düşündürmektedir.²²

Yapılan bir çalışmada, dört hafta boyunca haftada altı gün ve günde 5 mg/kg arsenit içeren içme suyu erişkin sıçanlara verilmiş; östrojen agonistleriyle indüklenen etkilere benzer şekilde üreme kanalında gonadotropinlerin ve testiküler androjenin baskılanması ve Germ hücrelerinde dejenerasyon gibi anomaliler görüldüğü bildirilmiştir.⁵³ Waalkes ve ark. tarafından yürütülen bir başka çalışmada, 20 hafta boyunca haftada bir kez intravenöz 0,5 mg/kg sodyum arsenit verilen farelerde, erkeklerde testiküler interstisyel hücrelerde hiperplazi ve buna bağlı olarak tübüler dejenerasyon; dişilerde ise anormal yüksek düzeyde ve sürekli östrojenik uyarıyla ilişkilendirilen bir durum olan kistik endometriyal hiperplazi görüldüğü belirtilmiştir.⁵⁵ Yine Waalkes ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada, arseniğe in utero maruziyetin dişi ve erkek yavrularda, östrojenik etkiye bağlı olarak ortaya çıkan sonuçlara yol açtığı bildirilmiştir.⁵⁶ ABD Çevre Koruma Ajansı'nın içme sularında izin verdiği miktarın 40 kat fazlası olan günde 0,4 ppm miktarında sodyum arsenitin, gonadotropinler ve plazma östradiol düzeylerini düşürdüğü, steroidojenik enzimlerin (HSD ve 17b HSD) aktivitesini azalttığı belirtilmiştir.⁵⁷

B. İNSANLAR ÜZERİNDEKİ ÇALIŞMALAR

Michigan'daki infertilite kliniklerine başvuran erkekler üzerinde yapılan kesitsel bir çalışmada, sigara ve yaş faktörü optimize edildikten sonra, çevresel arsenik düzeylerine maruz kalmanın düşük sperm motilitesine yol açabileceği yönünde önemli kanıtlar bulunmuştur.⁴⁰ Arseniğin düşük semen hacmi için de önemli bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışma grubunun başka bir raporunda ise yaş, beden kitle indeksi (BKİ) ve mevcut sigara içimi gibi etkenler optimize edildikten sonra, artan arsenik seviyeleri ile lüteinize edici hormon seviyelerindeki düşüş arasında ilişki bulunmuştur.⁵⁸

Arseniğe hava veya içme suyuyla maruz kalan kadınlarda, üreme sistemi üzerindeki etkilerin araştırıldığı bir çalışmada, Tabacova ve ark., Bulgaristan'daki bakır döküm alanından arseniğe maruz

kalma ile gebelikte oksidatif hasar arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir.⁵⁹ En yüksek çevre kirliliğine sahip bölgelerde, arseniğin plasental düzeylerinin en yüksek olduğu ve gebelik sırasında daha yüksek oranda maruz kalan gebe kadınların da daha yüksek oksidatif hasar riski taşıdığı bildirilmiştir.⁵⁹

Aschengrau ve ark.'nın yaptığı çalışmada, içme suyu kalitesi ve spontan düşük arasındaki ilişki araştırılmıştır.⁶⁰ Gebelik sırasında kadınların ikamet ettiği bölgelerdeki halka açık su kaynaklarında bulunan eser elementlerin türü ve konsantrasyonu analiz edilmiş, arseniğin yüksek konsantrasyonlarda, spontan düşük sıklığında bir artışa sebep olduğu belirtilmiştir.⁶⁰

Ölü doğumlar üzerine yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında, Ihrig ve ark., çevresel arsenik maruziyeti ile demografik ve sosyoekonomik değişkenleri (ırk, etnik köken, anne yaşı, medyan gelir ve parite) değerlendirmişler, arseniğe en fazla maruz kalan grupta ölü doğum riskinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir.⁶¹

CIVA

Toksik etkilerin görülmesinde cıvanın kimyasal formu önemli bir faktördür. Organik cıva bileşiklerinin diğer formlara göre daha toksik oldukları bilinmektedir. Cıvaya mesleki maruziyet; nörodejenerasyona, davranış değişikliklerine ve ölüme yol açabilmektedir. Endüstriyel kullanım alanları; laboratuvarlar, diş klinikleri, termometreler, boyalar, elektrikli ekipman ve klor-alkali endüstrisidir. İnsanlar için üç önemli çevresel cıva kaynağı; deniz mahsülleri tüketimi, diş amalgamları ve aşılardır. Aşılardaki cıvanın tiyomersal kaynaklı olduğu bilinmektedir. Tiyomersal bir etil cıva bileşiğidir ve aşılara prezervatif olarak eklenmektedir. Özellikle yaşamın erken dönemlerindeki tiyomersal maruziyeti otizm ve dikkat eksikliği-hiperaktivite bozukluğu ile ilişkilendirilmektedir. Cıva ile kontamine olan balıklar; gebeler ve bebekleri için ciddi bir sağlık riski oluşturmaktadır. Cıva, plasentayı ve bebeklerin henüz yeterince gelişmemiş kan-beyin bariyerini kolayca geçebildiğinden, fetüste ya da yenidoğanda maruziyetin ardından ortaya çıkan nörolojik ve davranışsal sorunlar büyük kaygı sebebidir.^{2,62}

A. İN VİTRO VE HAYVAN ÇALIŞMALARI

Düşük dozda cıva maruziyetinin deney hayvanlarında erkek üreme sistemini olumsuz yönde etkilediğini, kan-testis bariyerini geçtiğini, Sertoli ve Leydig hücrelerinde biriktiğini bildiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.⁶³⁻⁶⁷

Sıçan Sertoli hücreleri ile yapılan bir çalışmada hücrelerin inorganik cıvaya ([31 µM (6,22 mg/L)] maruziyetin inhibin b üretiminde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.⁶⁸ Başka bir çalışmada, sıçan epididimal spermalarının inorganik cıva ile inkübasyonundan sonra sperm sayısında ve doz-bağımlı olarak motilitede bir azalma görüldüğü belirtilmiştir.⁶⁹

Sağlıklı 30 gönüllüden alınan sperm örneklerinin, in vitro olarak 50-800 µmol/L arasında değişen konsantrasyonlarda cıvaya maruziyeti sonucunda, membran lipid peroksidasyonu ve DNA kırılmalarını indüklediği, sperm canlılığının azaldığı ve sperm disfonksiyonuna yol açan akrozom reaksiyon hızının düştüğü bildirilmiştir.⁷⁰

Cıvanın östrojenik etkileri MCF-7 hücreleri üzerinde de incelenmiş; cıva klorürün östrojen bağımlı reseptör transkripsiyonunu uyardığı ve MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir.⁷¹ Başka bir çalışmada ise Sukocheva ve ark., metil cıvanın MCF-7 hücrelerinde östrojen maruziyeti ile oluşan farklılaşmış odakları saymışlar ve metil cıvanın odak oluşumunu uyardığını, ancak östradiol tarafından oluşturulan yanıtı ulaşamadığını ve cıvanın zayıf bir östrojenik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.^{72,73} Cıvanın östrojen reseptör agonist/antagonist özelliklerinin konsantrasyona bağlı olduğu, odak oluşumunu uyarmasının antiöstrojen ICI 182,780 ile önlenemediği belirtilmiştir.²

Sıçanlarda 90 gün boyunca inorganik (50 veya 100 µg/kg i.p) veya organik (5-10 µg/kg metil cıva klorür, 50-100 µg/kg cıva klorür) cıvaya maruziyetin, Leydig hücre dejenerasyonunu indüklediği, testosteron üretiminde kritik bir enzim olan 3b-HSD aktivitesini inhibe ettiği ve testosteron seviyelerinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.^{74,75} Bir diğer çalışmada, erkek albino sıçanlara 0,5 ve 1 mg/kg cıva klorür 30 gün boyunca verilmiş ve tes-

tosteron ve lüteinize edici hormon seviyelerinin düşük dozda ve yüksek dozda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı bildirilmiştir. FSH ve prolaktin seviyeleri yüksek dozda anlamlı derecede azalır iken, düşük dozda anlamlı değişiklik görülmediği belirtilmiştir.⁷⁶ Swiss albino farelere 21 gün boyunca 0,5 ppm cıva klorür verilmiş; cıva uygulaması ile "tunica albuginea" dejenerasyonu, seminer tübüllerin anormal konfigürasyonu, spermatoisitlerde birincil ve ikincil deformasyonlar, interstisyel ve Sertoli hücrelerinde hipertrofi ve vaküolizasyon şeklinde değişiklikler görüldüğü bildirilmiştir. 3β-HSD ve 17β-HSD enzimi ve testosteron hormon seviyelerinde anlamlı azalma ve spermatojenik hücrelerin çapında anlamlı düşüş olduğu belirtilmiştir.⁷⁷ Oral yolla 45 gün boyunca cıva klorür (Günde 1,25 mg/kg) verilen sıçanlarda, testosteronun baskılandığı ve testiküler kolesterol düzeylerinin arttığı belirtilmiştir.⁷⁸ Araştırmacılar, kolesterol düzeyindeki artışın seks steroid hormonlarına biyosentetik dönüşümünün engellenmesine ya da cıvanın testislerde östrojenin etkilerini taklit ederek, hem androjen üretimini inhibe etmesine, hem de yüksek dansiteli lipoprotein reseptörünün artışına bağlı olarak kolesterol birikimine yol açmasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.⁷⁹

Hamsterlarda subkütan cıva klorür maruziyetinin (günde 1 mg) östrus siklusunda anomalilere, foliküler olgunlaşmanın baskılanmasına, plazma ve luteal progesteron seviyelerinde azalmaya ve hipotalamus-hipofiz gonadotropin sekresyonunda bozukluklara yol açtığı bildirilmiştir.⁸⁰ Benzer bozuklukların cıva buharına maruz kalan dişi sıçanlarda da görüldüğü, östrus siklusunun uzadığı ve corpus luteumda morfolojik değişiklikler meydana geldiği belirtilmiştir.⁸¹

Cıva ile ilgili yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, bu ağır metalin endokrin bozucu etkileri olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalar, toksik etkilerin farklı dozlarda farklı maruziyet süreleri ve dönemlerine bağlı olarak değişiklik gösterebileceğine işaret eder niteliktedir.

B. İNSANLAR ÜZERİNDEKİ ÇALIŞMALAR

İnsanda cıva maruziyetinin endokrin bozucu etkilerini incelemek amacıyla yapılmış farklı çalışma-

lar bulunmaktadır. Bu çalışmaların genellikle üreme sistemi toksisitesi üzerine yoğunlaştığı görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada, erkeklerden alınan semen örneklerinde metil cıva saptanmış ve metil cıva maruziyetinin üreme sistemi bozukluklarıyla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.⁸² İnfertil ve anormal sperm parametrelerine sahip erkek bireylerin kan cıva düzeyleri kontrol grubuna (fertilite sorunu olmadığı bilinen erkekler) göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.⁸³ Hong Kong'da infertil erkekler üzerinde yapılan bir çalışmada, seminal sıvıdaki cıva düzeyinin, anormal sperm morfolojisi ile pozitif ilişkili ve normal sperm hareket özellikleri ile negatif ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁸⁴

Subfertil erkeklerde saçta saptanan metil cıvanın, aynı yaş grubundaki fertilite sorunu olmayan erkeklerle göre yaklaşık %40 daha fazla olduğu belirtilmiştir. En yüksek cıva düzeyine sahip olan erkeklerin subfertil olma riskinin en düşük cıva seviyelerine sahip erkeklerin iki katı kadar yüksek olabileceği sonucuna varılmıştır.⁸⁵

Mesleki olarak cıvaya maruz kalan kadınlarda üreme sistemi bozuklukları görülebileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Cıva buharlı lamba üretiminde ya da dişçilikte cıvaya mesleki maruziyet, menstrüel siklus bozuklukları, infertilite ve gebelikte istenmeyen durumların oluşmasıyla ilişkilendirilmiştir.² İnsanlarda cıva maruziyeti ile serum seks hormon düzeyleri arasında bir bağ olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Kadınlarda artan cıva kan düzeyleri ile serum östrojen ve östradiol düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Erkeklerde de kan cıva ile hormon düzeyleri arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir.⁴

Dickerson ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, normal sınırlarda BKİ'ye sahip ve yaş ortalaması 32,7 yıl olan, bir kez in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi görmüş subfertil 30 kadının saçları analiz edilmiştir.⁸⁶ Ovaryan uyarımı takiben, saç örneklerinde saptanan cıva konsantrasyonu ile yumurta verimi ve folikül sayısı arasında negatif bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuç, cıvanın IVF tedavisinde yumurtalıkların gonadotropine ya-

nıtı üzerinde zararlı etkileri olduğunu göstermektedir.⁸⁶ Nedeni açıklanamayan infertiliteye sahip kadınlar ve anormal spermilere sahip infertil erkeklerde, doğurgan olan kadın ve erkeklerle kıyasla daha yüksek kan cıva konsantrasyonları olduğu bildirilmiştir.⁸³

Yapılan farklı çalışmalarda cıva maruziyetinin sadece üreme sistemi toksisitesine neden olmadığına; ayrıca endokrin sistem üzerinde farklı toksik etkileri olduğuna da işaret edilmektedir. Klor-alkali tesislerinde çalışan işçilerde cıva buharına mesleki maruziyetin T₃/T₄ oranındaki artış ve serum serbest T₃ düzeylerindeki azalış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.⁸⁷ Annenin fazla miktarda balık tüketimine bağlı olarak artan prenatal cıva maruziyetinin nörokognitif gelişimi olumsuz etkileyebileceğine dair önemli çalışmalar bulunmaktadır.⁸⁸⁻⁹⁰

KURŞUN

Kurşun, mineral yataklarında genellikle diğer elementlerle birleşmiş hâlde doğal olarak bulunan bir elementtir. Toprağın doğal kurşun seviyeleri genellikle düşüktür; ancak insan faaliyetleri nedeni ile, özellikle madencilik ve eritme tesislerinin, bazı endüstriyel işletmelerin yakınında ve karayollarına yakın ortamlarda toprak kurşun düzeylerinde önemli artış görülmektedir. Erişkinler için mesleki kurşun maruziyetinin ana yolu, kurşun içeren toz ve dumanların solunmasıdır. Mesleki olmayan ortamlarda, kurşun içeren borulardan veya doğal jeolojik oluşumlardan sızan kurşunla kirlenmiş yiyecek ve içme suyu tüketilmesi birincil maruz kalma yoludur.⁹¹⁻⁹³ Kurşun, insan popülasyonlarında endokrin bozucu etkisi olduğuna dair en güçlü kanıtlar bulunan ağır metaldir.

A. İN VİTRO VE HAYVAN ÇALIŞMALARI

IVF ile elde edilen insan yumurtalık granüloza hücre kültürlerinde kurşun maruziyetinin P450 aromataz ve ERb'nin mRNA ekspresyonunu ve protein düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir.⁹⁴ Kurşunun hedef aldığı bir diğer molekülün ise kolesterolün mitokondri içine transferinden sorumlu steroidojenik akut düzenleyici protein [steroidogenic acute regulatory protein (StAR)] olduğu, kurşuna in utero maruz kalan dişi sıçanlarda bazal

ovaryan StAR mRNA ekspresyonu ve protein düzeylerinin düştüğü belirtilmiştir.⁹⁵

Deney hayvanlarında kurşunun yavru ağırlığını, hayatta kalma oranını düşürebileceği, dişi üreme sisteminin olgunlaşması sürecini değiştirebileceği veya cinsel olarak olgunlaşmış hayvanda üreme sisteminin işlevlerinde bozulmalara neden olabileceği belirtilmiştir.⁹⁶

Diyetle kurşuna maruz bırakılan dişi farelerin 48 saatlik embriyolarının incelendiği bir çalışmada, erken hücre bölünmelerinde gecikmeler gözlemlendiği ve sekiz hücreli evreye ulaşabilen embriyo sayısının kontrole oranla daha az olduğu ortaya çıkmıştır. Blastokist oluşumu, kurşuna nispeten dirençli görünse de blastokistlerin implantasyonunda bozukluklar görüldüğü bildirilmiştir. Östrojen ve progesteronun kurşun ile birlikte uygulanmasının implantasyonun başarısızlığını önlediği, implantasyondan sonra östrojen ve progesteronda normal olarak meydana gelen artışın kurşuna maruz bırakılan farelerde görülmediği belirtilmiştir. Bu veriler, kurşunun dişi üreme sistemi üzerindeki toksisitesini endometriyumun ovaryan steroid uyarımına müdahale ederek gösterdiğini düşündürmektedir.^{97,98}

25-250 ppm dozlarında kurşuna maruz kalan dişi sıçanlarda ergenlik başlangıcının geciktiği, yavrularında vajinal açıklığın oluşumunda gecikmeler olduğu, doğurganlık veya üreme performansı üzerinde başka bir etki görülmediği bildirilmiştir.⁹⁹

McGivern ve ark., Sprague-Dawley gebe sıçanlarını içme suyu aracılığıyla kurşun asetata (550 ppm Pb) maruz bıraktıkları çalışmalarında, bu gebelerden doğan dişi yavrularını incelemişler ve bu yavrularda vajinal açıklıklarının oluşmasında önemli ölçüde gecikme olduğunu saptamışlardır.¹⁰⁰ Ayrıca, bu yavruların yarısında belirgin bir corpus luteum eksikliği gözlenmiştir ve buna bağlı olarak uzun ve düzensiz östrus dönemleri sergiledikleri belirtilmiştir.¹⁰⁰

Deneysel hayvan çalışmaları, kurşun maruziyetinin testiküler atrofiye, aksesuar bezlerin ağırlığında ve semen kalitesinde değişikliklere, ayrıca hipotalamik-testiküler-hipofiz aksının bozulmasına yol açabileceğini göstermiştir.^{101,102} Kurşunun, özel-

likle epididimis ve diğer aksesuar bezlerde biriktirdiği Sertoli hücre fonksiyonunun çok etkilenmediği, ancak Leydig hücrelerinde testosteron sentezinin baskılandığı bildirilmiştir.¹⁰²⁻¹⁰⁵

Kurşunun erkek üreme sistemi organlarında akümüle olduğu, spermatogenezde aksaklıklara ve gecikmelere, ayrıca fertilitede düşmeye neden olduğu bilinmektedir. Kan ve seminal plazmada kurşun konsantrasyonu ile değişen sperm fonksiyonuna bağlı fertilizasyon oranı arasında anlamlı ters bir orantı olduğu bildirilmiştir. Kurşun maruziyetinden en çok etkilenen sperm fonksiyonu, progesteron bağımlı akrozom reaksiyonudur.² Yapılan çalışmalarda, kurşunun hem Sertoli hem de Leydig hücre steroid üretimini sentezin her basamağında inhibe ettiği; gonadotropin reseptörleri, StAR, p450 yan zincir ayrılması, 3b-HSD ve p450c17 ekspresyonlarının/aktivitelerinin kurşun tarafından in vivo, ex vivo ve in vitro baskılandığı bildirilmiştir.^{102,106-109}

Kurşuna prenatal, laktasyon ve prepubertal maruziyetin [%0,05, %0,15, %0,45 (w/v) dozlarda] sıçanlarda büyümeyi etkilediği, ergenlikte erkeklerde plasma testosteron, dişilerde östrojen seviyelerini baskıladığı, dişilerde vajinal açılma dönemini ve ilk östrusu geciktirdiği, erkeklerde plazma lüteinize edici hormon seviyesi ve plazma testosteron/LH oranını düşürdüğü, insülin-benzeri büyüme faktörünün serum seviyelerinin baskılanmasıyla östrus siklusunu kesintiye uğrattığı bildirilmiştir.^{110,111} Dişi farelerde kurşunun sıçanlarda olduğu gibi ergenliğin gecikmesine neden olabileceği, buna karşın çok düşük kurşun düzeylerinin (0,02 ppm) ergenliğe girişte belirgin ve anlamlı bir hızlanmayla ilişkilendirildiği, bu durumda maruz kalan dozun ergenlik sürecine etkisi olduğu belirtilmiştir.¹¹²

Sinomolgus maymunlarında in vivo kurşun maruziyetinin etkilerinin incelendiği bir çalışmada (Günde 1500 µg/kg 10 yıl süreyle), progesteronu etkilemeden ve menstrüel düzensizlik belirtisi göstermeden lüteinize edici hormon, FSH ve östradiolü baskıladığı bildirilmiştir.¹¹³ Prenatal ve neonatal kurşun maruziyetinin, sıçan yumurtalık homojenat Δ4 androjen üretimini baskıladığını ve

5a-indirgenmiş androjenleri artırdığını belirtilen bir çalışma da bulunmaktadır.¹¹⁴ Kurşuna in utero maruz bırakılan farelerde, ovaryan primordial foliküllerin sayısında çok belirgin bir düşüş olduğu bildirilmiştir.¹¹⁵ Yüksek konsantrasyonlarda kurşunun, insan granüloza hücre kültürlerinde progesteron üretiminde anlamlı düşüş meydana getirdiği saptanmıştır.⁴

B. İNSANLAR ÜZERİNDEKİ ÇALIŞMALAR

Kurşun maruziyetine bağlı olarak insanlarda görülebilecek toksik etkilerin ve bu etkilerin mekanizmalarının anlaşılması amacıyla çok çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu in vitro ve in vivo hayvan çalışmalarının sonuçları, bize bu olası toksik etkiler ve sonuçları ile ilgili önemli oranda bilgi sağlamaktadır. Ancak, insanlarda yapılan çalışmalarda bu maruziyete bağlı olarak ortaya çıkabilecek durumun anlaşılması açısından oldukça önemlidir.

Kurşunun hem erkek hem dişi üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkileri yüzyıllardan beri bilinmektedir ve bu ağır metale mesleki olarak maruziyet sonrası her iki cinsiyette de infertilite, spontan abortuslar, fetal ve neonatal ölümler gibi ciddi etkiler meydana geldiği görülmüştür.⁹⁶

Avustralya Port Pirie'de bulunan bir kurşun maden işletmesi yakınında yaşayan 831 gebe kadın üzerinde, kurşuna maruziyet ve emilim açısından prospektif bir araştırma yapılmış, kan kurşun düzeyleri ve gebelik sonuçları değerlendirilmiştir. Maternal kurşun maruziyetinin erken doğum riskini anlamlı oranda artırdığı sonucuna varılmıştır.¹¹⁶

Falcon ve ark., plasental kurşun konsantrasyonu ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkiyi değerlendirdikleri çalışmada, erken membran rüptürleri ve erken doğum (gestasyonel yaş≤37 hafta) görülen kadınlarda (zamanında doğum yapanlara göre) daha yüksek plasental kurşun düzeyleri ölçüldüğünü bildirmişlerdir.¹¹⁷

Hu ve ark.nın yaptığı çalışma ile 1930-1944 yılları arasında çocukluk dönemlerinde kurşun zehirlenmesi yaşayan kadınların gebeliklerine ilişkin ilginç veriler elde edilmesi sağlanmıştır.¹¹⁸ Kurşunun kemik dokusunda birikmesi ve gebelik sıra-

sında iskeletin demineralizasyonu ile serbest hâle geçmesi nedeni ile kan konsantrasyonunda artış gözlemlenebileceği ifade edilmiştir. Bu kadınlarda spontan abortus veya ölü doğum ile sonuçlanan gebeliklerin oranının, kontrol grubuna göre iki kat daha yüksek olduğu bulunmuştur.¹¹⁸

Mesleki kurşun maruziyetinin etkilerinin incelendiği birçok çalışmada, kan kurşun düzeyi azalmış sperm sayısı, zayıf sperm motilitesi ve anormal sperm morfolojisi ile ilişkili bulunmuştur.¹¹⁹⁻¹²⁸

Düşük ila orta kan kurşun düzeylerine (ortalama kan kurşun düzeyi=367 mg/L) sahip bir grup Hırvat erkeğin, mesleki olarak kurşuna maruz kalmayan erkeklerle (ortalama kan kurşun düzeyi=103 mg/L) karşılaştırıldığı bir çalışmada; medyan sperm yoğunluğu, sperm sayısı ve hareketli sperm sayısının düşük ve orta derecede kurşuna maruz kalan erkeklerde anlamlı olarak düşük olduğu bildirilmiştir. Çalışmada, kan kurşun düzeyleri ile sperm sayısı ve progresif olarak hareketli sperm sayısı arasında negatif; anormal sperm başı morfolojisi, testosteron ve estradiol düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği, daha yüksek kan kurşun düzeylerinde, prostat sekresyon belirteçlerinde (seminal çinko seviyesi, asit fosfataz aktivitesi ve sitrik asit düzeyi) düşüş gözlemlendiği belirtilmiştir.⁴¹

Androloji kliniğine başvuran ve metallere mesleki maruziyeti olmayan 123 Hırvat erkek üzerinde yapılan bir çalışmada, medyan kan kurşun düzeyi 57 mg/L olarak saptanmıştır. Yaş, sigara, alkol, kan kadmiyum ve serum bakır, çinko ve selenyum düzeylerine göre optimize edilmiş koşullarda, kan kurşun düzeylerinin yavaş anormal spermelerin yüzdesi ile pozitif ve normal spermle negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.^{39,129} Daha büyük bir popülasyon (240 erkek) üzerinde yürütülen başka bir çalışmada, medyan kan kurşun düzeyi 49,2 mg/L olarak ölçülmüş; kan kurşun düzeyi ile morfolojik olarak anormal (patolojik sperm, geniş sperm, yuvarlak) sperm, serum testosteron ve östradiol seviyeleri arasında pozitif; serum prolaktin seviyeleri arasında ise negatif ilişki olduğu belirtilmiştir. Uzun süreli kurşun maruziyetinin bir göstergesi olan d-aminolevulinik asit dehidrataz düzeyinde bir azalma, kurşunun prostat fonksiyonu üzerindeki olumsuz etkilerini gösteren azalan se-

minal plazma çinko seviyeleri ile ilişkili olarak bulunmuştur.¹²⁹

Çalışma popülasyonunun BKİ, yaş ve mevcut sigara kullanımına göre optimize edildiği başka bir çalışmada, kan kurşun düzeyi ile prolaktin ve TSH düzeyleri arasında anlamlı negatif ilişki bulunduğu bildirilmiştir.¹³⁰

Farklı araştırma grupları tarafından yapılan çok sayıda çalışmada, kurşuna çevresel maruziyetin kız çocuklarında büyümeyi ve pubertal gelişimi geciktirdiği belirtilmiştir.² Bu çalışmalardan birinde, 3 µg/dL kan kurşun konsantrasyonu, vücut ölçüleri ve diğer değişkenler hesaplandıktan sonra gecikmiş ergenlik ile ilişkilendirilmiştir.¹³¹ Bir diğer çalışmada; ırk/etnisite, yaş, BKİ, yaşam şekli, gelir düzeyi gibi tüm değişkenlerin göz önünde bulundurulmasının ardından, yine kan kurşun konsantrasyonu ile gecikmiş menarş arasında benzer bir ilişki bulunmuştur.¹³² Amerikan yerlilerinde yapılan ve kız çocuklarında yaş, sosyoekonomik düzey ve maruz kalınan diğer toksik maddeler hesaba katılarak yürütülen başka bir çalışmada da kan kurşun düzeyleri ile gecikmiş menarş arasında ilişki olduğu bildirilmiştir.¹³³ Tüm bu sonuçlar, ergenlik ve kan kurşun düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Kurşunun etkisini büyük olasılıkla doğrudan hipotalamus-hipofiz-over aksı üzerinde gösterdiği; kurşuna bağlı olarak düşen vücut ağırlığının ergenlik üzerinde yaratacağı etkinin ikinci planda kaldığı düşünülmektedir. Geçtiğimiz 10 yılda, ergenliğe giriş yaşının ABD’de, hatta Batı Avrupa ülkelerinden göç eden çocuklarda bile düştüğü belirtilmekte ve bu duruma çevresel endokrin bozucu kimyasalların yol açabileceği düşünülmektedir.²

Genel olarak, bu çalışmaların çoğu iyi tasarlanmış, farklı ülkelerde gerçekleştirilmiş ve düşük-orta düzeyde kurşuna maruz kalmanın insan sperm parametreleri ve hormon düzeylerindeki değişiklikler üzerinde ciddi olumsuz etkilerinin olduğu bulunmuştur.²²

SONUÇ

Tarihsel olarak böbrek veya sinir sistemini hedef alan ağır metal toksisitesi, çoğu araştırmanın odağı

olmuştur. Bununla birlikte, özellikle düşük konsantrasyonlarla yapılan çalışmalar sonucunda, ağır metallerin spesifik hücresel yollar üzerinden endokrin bozucu maddeler olarak hareket edebileceğine dair çok sayıda kanıt elde edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda, ağır metal maruziyetine bağlı olarak erkek üreme sisteminde bozukluklar (sperm parametrelerinde ve testis dokusunda hasar, spermatogenezin bozulması, plazma üreme hormon düzeylerinde değişiklikler), dişi üreme sisteminde bozukluklar (yumurtalık doku hasarı, üreme hormon düzey değişimleri, spontan düşük ve ölü doğum riski ve doğan yavrularda anomaliler), erken ya da geç ergenlik, tiroid hormon düzeylerinde değişim ve nöroendokrin sistemde ters etkiler gibi önemli toksik etkilerin görülebileceği sonucuna varılmıştır.

Ağır metallere maruz kalınan yaş, doz, maruziyet süresi ve maruziyet yolu oldukça önemlidir. Bu konuda araştırma yapılırken, planlanan çalışmaların ve çalışma sonuçlarının bu etkenler göz önünde bulundurularak değerlendirilmesi ve yorumlanması daha doğru olacaktır. Yaşamın gebelik, bebeklik, çocukluk ve ergenlik gibi hassas ve fizyolojik değişimin yoğun olduğu dönemlerinde bu maddelere maruziyetin erişkinlik döneminde maruziyete göre çok daha ciddi sonuçlar doğurabileceği bilinmektedir. Yine endokrin bozucu kimyasallar için tanımlanmış olan düşük doz etkisi ve ağır metaller için tanımlanmış hormetik etkiler ve monotonik olmayan doz-yanıt ilişkileri, geleneksel doz-yanıt eğrilerinin elde edilememesi toksisitenin yorumlanmasını zorlaştıran başka bir nedendir. Bu durum, yüksek dozlarda toksisite görülmediği hâlde günlük maruz kalınabilecek düşük dozlarda bile çok önemli ters etkiler görülmesine neden olabilmektedir.

Sonuç olarak, ağır metallerin endokrin bozucu etkileri ile ilgili daha kapsamlı ve mekanistik in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulduğu söylenebilmektedir. Yapılacak çalışmaların sonuçlarına göre, ağır metal maruziyetinden özellikle hassas popülasyonları korumak için düzenleyici kuruluşların daha ciddi önlemler alması gerekebilmektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğru-dan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, her-

hangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Pınar Erkekoğlu; **Tasarım:** Selinay Başak Erdemli Köse, Aylin Balcı; **Denetleme/Danışmanlık:** Pınar Erkekoğlu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Selinay Başak Erdemli Köse; **Analiz ve/veya Yorum:** Aylin Balcı; **Kaynak Taraması:** Pınar Erkekoğlu; **Makalenin Yazımı:** Selinay Başak Erdemli Köse, Aylin Balcı; **Eleştirel İnceleme:** Pınar Erkekoğlu, Aylin Balcı; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Pınar Erkekoğlu; **Malzemeler:** Pınar Erkekoğlu.

KAYNAKLAR

- Sharma RK, Agrawal M. Biological effects of heavy metals: an overview. J Environ Biol. 2005;26(2 Suppl):301-13.
- Dyer CA. Heavy metals as endocrine-disrupting chemicals. In: Gore AC, ed. Endocrine-Disrupting Chemicals: From Basic Research to Clinical Practice. 1st ed. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc; 2007. p.111-33. [Crossref]
- Jaishankar M, Tseten T, Anbalagan N, Mathew BB, Beeregowda KN. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdiscip Toxicol. 2014;7(2):60-72. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Rana SV. Perspectives in endocrine toxicity of heavy metals--a review. Biol Trace Elem Res. 2014;160(1):1-14. [Crossref] [PubMed]
- Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from The Endocrine Society. Endocrinology. 2012;153(9):4097-110. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Georgescu B, Georgescu C, Dărăban S, Bouaru A, Paşcalău S. Heavy metals acting as endocrine disrupters. Animal Science and Biotechnologies. 2011;44(2):89-93.
- Alsberg CL, Schwartze EW. Pharmacological action of Cd. Pharmacology. 1919;13:504-9.
- Yang JM, Arnush M, Chen QY, Wu XD, Pang B, Jiang XZ. Cadmium-induced damage to primary cultures of rat Leydig cells. Reprod Toxicol. 2003;17(5):553-60. [Crossref]
- Laskey JW, Phelps PV. Effect of cadmium and other metal cations on in vitro Leydig cell testosterone production. Toxicol Appl Pharmacol. 1991;108(2):296-306. [Crossref]
- Martin MB, Voeller HJ, Gelmann EP, Lu J, Stoica EG, Hebert EJ, et al. Role of cadmium in the regulation of AR gene expression and activity. Endocrinology. 2002;143(1):263-75. [Crossref] [PubMed]
- Martínez-Campa C, Alonso-González CA, Mediavilla MD, Cos S, González A, Ramons S, et al. Melatonin inhibits both ER activation and breast cancer cell proliferation induced by a metalloestrogen, cadmium. J Pineal Res. 2006;40(4):291-6. [Crossref] [PubMed]
- Beyersmann D, Hechtenberg S. Cadmium, gene regulation, and cellular signaling in mammalian cells. Toxicol Appl Pharmacol. 1997;144(2):247-61. [Crossref] [PubMed]
- Wilson VS, Bobseine K, Gray LE Jr. Development and characterization of a cell line that stably expresses an estrogen-responsive luciferase reporter for the detection of estrogen receptor agonist and antagonists. Toxicol Sci. 2004;81(1):69-77. [Crossref]
- García-Morales P, Saceda M, Kenney N, Kim N, Salomon DS, Gottardis MM, et al. Effect of cadmium on estrogen receptor levels and estrogen-induced responses in human breast cancer cells. J Biol Chem. 1994;269(24):16896-901.
- Piasek M, Laskey JW. Effects of in vitro cadmium exposure on ovarian steroidogenesis in rats. J Appl Toxicol. 1999;19(3):211-7. [Crossref]
- Benoff S, Jacob A, Hurley IR. Male infertility and environmental exposure to lead and cadmium. Hum Reprod Update. 2000;6(2):107-21. [Crossref] [PubMed]
- Thompson J, Bannigan J. Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. Reprod Toxicol. 2008;25(3):304-15. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Hew KW, Ericson WA, Welsh MJ. A single low cadmium dose causes failure of spermiogenesis in the rat. Toxicol Appl Pharmacol. 1993;121(1):15-21. [Crossref] [PubMed]
- Xu LC, Wang SY, Yang XF, Wang XR. Effects of cadmium on rat sperm motility evaluated with computer assisted sperm analysis. Bio-med Environ Sci. 2001;14(4):312-7.
- Laskey JW, Rehnberg GL, Laws SC, Hein JF. Reproductive effects of low acute doses of cadmium chloride in adult male rats. Toxicol Appl Pharmacol. 1984;73(2):250-5. [Crossref]
- Benoff S, Auburn K, Marmar JL, Hurley IR. Link between low-dose environmentally relevant cadmium exposures and asthenozoospermia in a rat model. Fertil Steril. 2008;89(2 Suppl):e73-9. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. Syst Biol Reprod Med. 2010;56(2):147-67. [Crossref] [PubMed]
- Phelps PV, Laskey JW. Comparison of age-related changes in in vivo and in vitro measures of testicular steroidogenesis after acute cadmium exposure in the Sprague-Dawley rat. J Toxicol Environ Health. 1989;27(1):95-105. [Crossref] [PubMed]
- Lafuente A, Márquez N, Pérez-Lorenzo M, Pazo D, Esquifino AI. Cadmium effects on hypothalamic-pituitary-testicular axis in male rats. Exp Biol Med (Maywood). 2001;226(6):605-11. [Crossref] [PubMed]
- Henson MC, Chedrese PJ. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. Exp Biol Med (Maywood). 2004;229(5):383-92. [Crossref] [PubMed]
- Saksena SK. Cadmium: its effects on ovulation, egg transport and pregnancy in the rabbit. Contraception. 1997;26(2):181-92. [Crossref]
- Barański B. Effect of cadmium on prenatal development and on tissue cadmium, copper, and zinc concentrations in rats. Environ Res. 1987;42(1):54-62. [Crossref]

28. Zeng X, Jin T, Zhou Y, Nordberg GF. Changes of serum sex hormone levels and MT mRNA expression in rats orally exposed to cadmium. *Toxicology*. 2003;186(1-2):109-18. [\[Crossref\]](#)
29. Lafuente A, Márquez N, Pérez-Lorenzo M, Pazo D, Esquifino AI. Pubertal and postpubertal cadmium exposure differentially affects the hypothalamic-pituitary-testicular axis function in the rat. *Food Chem Toxicol*. 2000;38(10):913-23. [\[Crossref\]](#)
30. Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, et al. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med*. 2003;9(8):1081-4. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Lafuente A, Cano P, Esquifino A. Are cadmium effects on plasma gonadotropins, prolactin, ACTH, GH and TSH levels, dose-dependent? *Biometals*. 2003;16(2):243-50. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Piasek M, Laskey JW. Acute cadmium exposure and ovarian steroidogenesis in cycling and pregnant rats. *Reprod Toxicol*. 1994;8(6):495-507. [\[Crossref\]](#)
33. Paksy K, Rajczy K, Forgács Z, Lázár P, Bernard A, Gáti I, et al. Effect of cadmium on morphology and steroidogenesis of cultured human ovarian granulosa cells. *J Appl Toxicol*. 1997;17(5):321-7. [\[Crossref\]](#)
34. ATSDR. Toxicological profile for Cadmium. US Department of Health and Human Services. Public Health Service, Atlanta, GA, USA, 2012. p487. (Erişim: 01.01.2019). [\[Link\]](#)
35. Xu B, Chia SE, Tsakok M, Ong CN. Trace elements in blood and seminal plasma and their relationship to sperm quality. *Reprod Toxicol*. 1993;7(6):613-8. [\[Crossref\]](#)
36. Chia SE, Ong CN, Lee ST, Tsakok FH. Blood concentrations of lead, cadmium, mercury, zinc, and copper and human semen parameters. *Arch Androl*. 1992;29(2):177-83. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Akinloye O, Arowojolu AO, Shittu OB, Anetor JI. Cadmium toxicity: a possible cause of male infertility in Nigeria. *Reprod Biol*. 2006;6(1):17-30.
38. Pant N, Banerjee AK, Pandey S, Mathur N, Saxena DK, Srivastava SP. Correlation of lead and cadmium in human seminal plasma with seminal vesicle and prostatic markers. *Hum Exp Toxicol*. 2003;22(3):125-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Jurasović J, Cvitković P, Pizent A, Colak B, Telisman S. Semen quality and reproductive endocrine function with regard to blood cadmium in Croatia male subjects. *Biometals*. 2004;17(6):735-43. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puscheck E, Daly D, et al. Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: human evidence for molybdenum as a male reproductive toxicant. *Environ Health Perspect*. 2008;116(11):1473-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
41. Telisman S, Cvitković P, Jurasović J, Pizent A, Gavella M, Rocić B. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ Health Perspect*. 2000;108(1):45-53. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
42. Zeng X, Jin T, Zhou Y, Kong Q. Alterations of serum hormone levels in male workers occupationally exposed to cadmium. *J Toxicol Environ Health A*. 2002;65(7):513-21. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Nagata C, Nagao Y, Shibuya C, Kashiki Y, Shimizu H. Urinary cadmium and serum levels of estrogens and androgens in postmenopausal Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(3):705-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Davey JC, Bodwell JE, Gosse JA, Hamilton JW. Arsenic as an endocrine disruptor: effects of arsenic on estrogen receptor-mediated gene expression in vivo and in cell culture. *Toxicol Sci*. 2007;98(1):75-86. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Chow SK, Chan JY, Fung KP. Suppression of cell proliferation and regulation of estrogen receptor signal pathway by arsenic trioxide on human breast cancer MCF-7 cells. *J Endocrinol*. 2004;182(2):325-37. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Lopez S, Miyashita Y, Simons SS Jr. Structurally based, selective interaction of arsenite with steroid receptors. *J Biol Chem*. 1990;265(27):16039-42.
47. Kaltreider RC, Davis AM, Lariviere JP, Hamilton JW. Arsenic alters the function of the glucocorticoid receptor as a transcription factor. *Environ Health Perspect*. 2001;109(3):245-51. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
48. Kitchin KT, Wallace K. Arsenite binding to synthetic peptides based on the Zn finger region and the estrogen binding region of the human estrogen receptor- α . *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;206(1):66-72. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Pant N, Kumar R, Murthy RC, Srivastava SP. Male reproductive effect of arsenic in mice. *Biometals*. 2001;14(2):113-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Chiou TJ, Chu ST, Tzeng WF, Huang YC, Liao CJ. Arsenic trioxide impairs spermatogenesis via reducing gene expression levels in testosterone synthesis pathway. *Chem Res Toxicol*. 2008;21(8):1562-9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
51. Chang SI, Jin B, Youn P, Park C, Park JD, Ryu DY. Arsenic-induced toxicity and the protective role of ascorbic acid in mouse testis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007;218(2):196-203. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Biswas S, Talukder G, Sharma A. Prevention of cytotoxic effects of arsenic by short-term dietary supplementation with selenium in mice in vivo. *Mutat Res*. 1999;441(1):155-60. [\[Crossref\]](#)
53. Jana K, Jana S, Samanta PK. Effects of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamic-pituitary-testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4:9. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
54. Sarkar M, Chaudhuri GR, Chattopadhyay A, Biswas NM. Effect of sodium arsenite on spermatogenesis, plasma gonadotrophins and testosterone in rats. *Asian J Androl*. 2003;5(1):27-31.
55. Waalkes MP, Keefer LK, Diwan BA. Induction of proliferative lesions of the uterus, testes, and liver in swiss mice given repeated injections of sodium arsenate: possible estrogenic mode of action. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2000;166(1):24-35. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
56. Waalkes MP, Ward JM, Liu J, Diwan BA. Transplacental carcinogenicity of inorganic arsenic in the drinking water: induction of hepatic, ovarian, pulmonary, and adrenal tumors in mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003;186(1):7-17. [\[Crossref\]](#)
57. Chattopadhyay S, Ghosh S, Chaki S, Debnath J, Ghosh D. Effect of sodium arsenite on plasma levels of gonadotrophins and ovarian steroidogenesis in mature albino rats: duration-dependent response. *J Toxicol Sci*. 1999;24(5):425-31. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Padmanabhan V, Diamond MP, Puscheck E, et al. Environmental exposure to metal and male reproductive hormones: circulating testosterone is inversely associated with blood molybdenum. *Fertil Steril*. 2010;93(1):130-40. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
59. Tabacova S, Baird DD, Balabaeva L, Lolova D, Petrov I. Placental arsenic and cadmium in relation to lipid peroxides and glutathione levels in maternal-infant pairs from a copper smelter area. *Placenta*. 1994;15(8):873-81. [\[Crossref\]](#)
60. Aschengrau A, Zierler S, Cohen A. Quality of community drinking water and the occurrence of spontaneous abortion. *Arch Environ Health*. 1989;44(5):283-90. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
61. Ihrig MM, Shalat SL, Baynes C. A hospital-based case-control study of stillbirths and environmental exposure to arsenic using an atmospheric dispersion model linked to a geographical information system. *Epidemiology*. 1998;9(3):290-4. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Clarkson TW. The three modern faces of mercury. *Environ Health Perspect*. 2002;110 Suppl 1:11-23. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
63. Clarkson TW, Magos L. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit Rev Toxicol*. 2006;36(8):609-62. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)

64. Tan SW, Meiller JC, Mahaffey KR. The endocrine effects of mercury in humans and wildlife. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(3):228-69. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
65. Ernst E, Möller-Madsen B, Danscher G. Ultrastructural demonstration of mercury in Sertoli and Leydig cells of the rat following methyl mercuric chloride or mercuric chloride treatment. *Reprod Toxicol.* 1991;5(3):205-9. [\[Crossref\]](#)
66. Lee IP, Dixon RL. Effects of mercury on spermatogenesis studied by velocity sedimentation cell separation and serial mating. *J Pharmacol Exp Ther.* 1975;194(1):171-81.
67. Schuur AH. Reproductive toxicity of occupational mercury. A review of the literature. *J Dent.* 1999;27(4):249-56. [\[Crossref\]](#)
68. Monsees TK, Franz M, Gebhardt S, Winterstein U, Schill WB, Hayatpour J. Sertoli cells as a target for reproductive hazards. *Andrologia.* 2000;32(4-5):239-46. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
69. Rao MV, Gangadharan B. Antioxidative potential of melatonin against mercury induced intoxication in spermatozoa in vitro. *Toxicol In Vitro.* 2008;22(4):935-42. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
70. Arabi M, Heydarnejad MS. In vitro mercury exposure on spermatozoa from normospermic individuals. *Pak J Biol Sci.* 2007;10(15):2448-53. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
71. Choe SY, Kim SJ, Kim HG, Lee JH, Choi Y, Lee H, et al. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Sci Total Environ.* 2003;312(1-3):15-21. [\[Crossref\]](#)
72. Sukocheva OA, Yang Y, Gierthy JF, Seegal RF. Methyl mercury influences growth-related signaling in MCF-7 breast cancer cells. *Environ Toxicol.* 2005;20(1):32-44. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
73. Gierthy JF, Lincoln DW 2nd, Roth KE, Bowser SS, Bennett JA, Bradley L, et al. Estrogen stimulation of postconfluent cell accumulation and foci formation of human MCF-7 breast cancer cells. *J Cell Biochem.* 1991;45(2):177-87. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
74. Chowdhury AR, Vachhrajani KD, Chatterjee BB. Inhibition of 3 beta-hydroxy-delta 5-steroid dehydrogenase in rat testicular tissue by mercuric chloride. *Toxicol Lett.* 1985;27(1-3):45-9. [\[Crossref\]](#)
75. Vachhrajani KD, Chowdhury AR. Distribution of mercury and evaluation of testicular steroidogenesis in mercuric chloride and methylmercury administered rats. *Indian J Exp Biol.* 1990;28(8):746-51.
76. Ramalingam V, Vimaladevi V, Rajeswary S, Suryavathi V. Effect of mercuric chloride on circulating hormones in adult albino rats. *J Environ Biol.* 2003;24(4):401-4.
77. Nagar RN, Bhattacharya L. Effect of mercuric chloride on testicular activities in mice, *Musculus albinus.* *J Environ Biol.* 2001;22(1):15-8.
78. Rao MV, Sharma PS. Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice. *Reprod Toxicol.* 2001;15(6):705-12. [\[Crossref\]](#)
79. Tong MH, Christenson LK, Song WC. Aberrant cholesterol transport and impaired steroidogenesis in Leydig cells lacking estrogen sulfotransferase. *Endocrinology.* 2004;145(5):2487-97. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
80. Lamperti AA, Printz RH. Effects of mercuric chloride on the reproductive cycle of the female hamster. *Biol Reprod.* 1973;8(3):378-87. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
81. Davis BJ, Price HC, O'Connor RW, Fernando R, Rowland AS, Morgan DL. Mercury vapor and female reproductive toxicology. *Toxicol Sci.* 2001;59(2):291-6. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
82. Rignell-Hydbom A, Axmon A, Lundh T, Jönsson BA, Tiido T, Spano M. Dietary exposure to methyl mercury and PCB and the associations with semen parameters among Swedish fishermen. *Environ Health.* 2007;6:14. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
83. Choy CM, Lam CW, Cheung LT, Briton-Jones CM, Cheung LP, Haines CJ. Infertility, blood mercury concentrations and dietary seafood consumption: a case-control study. *BJOG.* 2002;109(10):1121-5. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
84. Choy CM, Yeung QS, Briton-Jones CM, Cheung CK, Lam CW, Haines CJ. Relationship between semen parameters and mercury concentrations in blood and in seminal fluid from subfertile males in Hong Kong. *Fertil Steril.* 2002;78(2):426-8. [\[Crossref\]](#)
85. Dickman MD, Leung CK, Leong MK. Hong Kong male subfertility links to mercury in human hair and fish. *Sci Total Environ.* 1998;214:165-74. [\[Crossref\]](#)
86. Dickerson EH, Sathyapalan T, Knight R, Maguiness SM, Killick SR, Robinson J, et al. Endocrine disruptor & nutritional effects of heavy metals in ovarian hyperstimulation. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(12):1223-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
87. Barregård L, Lindstedt G, Schütz A, Sällsten G. Endocrine function in mercury exposed chloralkali workers. *Occup Environ Med.* 1994;51(8):536-40. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
88. Oken E, Radesky JS, Wright RO, Bellinger DC, Amarasiwardena CJ, Kleinman KP, et al. Maternal fish intake during pregnancy, bloodmercury levels, and child cognition at age 3 years in a US cohort. *Am J Epidemiol.* 2008;167(10):1171-81. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
89. Geier DA, Kern JK, Geier MR. A prospective study of prenatal mercury exposure from maternal dental amalgams and autism severity. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2009;69(2):189-97.
90. Myers GJ, Thurston SW, Pearson AT, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, et al. Postnatal exposure to methyl mercury from fish consumption: a review and new data from the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology.* 2009;30(3):338-49. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
91. Juberg DR, Kleiman CF, Kwon SC. Position paper of the American Council on Science and Health: lead and human health. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1997;38(3):162-80. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
92. Pirkle JL, Kaufmann RB, Brody DJ, Hickman T, Gunter EW, Paschal DC. Exposure of the U.S. population to lead, 1991-1994. *Environ Health Perspect.* 1998;106(11):745-50. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
93. Gittleman JL, Engelgau MM, Shaw J, Wille KK, Seligman PJ. Lead poisoning among battery reclamation workers in Alabama. *J Occup Med.* 1994;36(5):526-32.
94. Taupeau C, Poupon J, Treton D, Brosse A, Richard Y, Machelon V. Lead reduces messenger RNA and protein levels of cytochrome P450 aromatase and estrogen receptor in human ovarian granulosa cells. *Biol Reprod.* 2003;68(6):1982-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
95. Srivastava V, Dearth RK, Hiney JK, Ramirez LM, Bratton GR, Dees WL. The effects of low-level Pb on steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in the prepubertal rat ovary. *Toxicol Lett.* 2004;77(1):35-40. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
96. Sengupta P, Banerjee R, Nath S, Das S, Banerjee S. Metals and female reproductive toxicity. *Hum Exp Toxicol.* 2015;34(7):679-97. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
97. Wide M. Lead and development of the early embryo. In: Clarkson TW, Nordberg GF, Sager PR, eds. *Reproductive and Developmental Toxicity of Metals.* 1st ed. New York: Plenum Press; 1983. p.343-55. [\[Crossref\]](#)
98. Wide M, Wide L. Estradiol receptor activity in uteri of pregnant mice given lead before implantation. *Fertil Steril.* 1980;34(5):503-8. [\[Crossref\]](#)
99. Kimmel CA, Grant LD, Sloan CS, Gladen BC. Chronic low-level lead toxicity in the rat. I. Maternal toxicity and perinatal effects. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1980;56(1):28-41. [\[Crossref\]](#)
100. McGivern RF, Sokol RZ, Berman NG. Prenatal lead exposure in the rat during the third week of gestation: long-term behavioral, physiological, and anatomical effects associated with reproduction. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1991;110(2):206-15. [\[Crossref\]](#)
101. Sokol RZ, Madding CE, Swerdloff RS. Lead toxicity and the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Biol Reprod.* 1985;33(3):722-8. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)

102. Thoreux-Manlay A, Vélez de la Calle JF, Olivier MF, Soufir JC, Masse R, Pinon-Lataillade G. Impairment of testicular endocrine function after lead intoxication in the adult rat. *Toxicology*. 1995;100(1-3):101-9. [\[Crossref\]](#)
103. Marchlewicz M, Protasowicki M, Rózewicka L, Piasecka M, Laszczyńska M. Effect of long-term exposure to lead on testis and epididymis in rats. *Folia Histochem Cytobiol*. 1993;31(2):55-62.
104. Oldereid NB, Thomassen Y, Attramadal A, Olaisen B, Purvis K. Concentrations of lead, cadmium and zinc in the tissues of reproductive organs of men. *J Reprod Fertil*. 1993;99(2):421-5. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
105. Nathan E, Huang HF, Pogach L, Giglio W, Bogden JD, Seebode J. Lead acetate does not impair secretion of Sertoli cell function marker proteins in the adult Sprague Dawley rat. *Arch Environ Health*. 1992;47(5):370-5. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
106. Wiebe JP, Salhanick AI, Myer KI. On the mechanism of action of lead in the testis: in vitro suppression of FSH receptors, cyclic AMP and steroidogenesis. *Life Sci*. 1983;32(17):1997-2005. [\[Crossref\]](#)
107. Rodamilans M, Martinez-Osaba MJ, To-Figueras J, Rivera-Fillat F, Torra M, Pérez P, et al. Inhibition of intratesticular testosterone synthesis by inorganic lead. *Toxicol Lett*. 1988;42(3):285-90. [\[Crossref\]](#)
108. Thoreux-Manlay A, Le Goascogne C, Segretain D, Jégou B, Pinon-Lataillade P. Lead affects steroidogenesis in rat Leydig cells in vivo and in vitro. *Toxicology*. 1995;103(1):53-62. [\[Crossref\]](#)
109. Liu MY, Leu SF, Yang HY, Huang BM. Inhibitory mechanisms of lead on steroidogenesis in MA-10 mouse Leydig tumor cells. *Arch Androl*. 2003;49(1):29-38. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
110. Ronis MJ, Gandy J, Badger T. Endocrine mechanisms underlying reproductive toxicity in the developing rat chronically exposed to dietary lead. *J Toxicol Environ Health A*. 1998;54(2):77-99. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
111. Dearth RK, Hiney JK, Srivastava V, Burdick SB, Bratton GR, Dees WL. Effects of lead (Pb) exposure during gestation and lactation on female pubertal development in the rat. *Reprod Toxicol*. 2002;16(4):343-52. [\[Crossref\]](#)
112. Iavicoli I, Carelli G, Stanek EJ, Castellino N, Li Z, Calabrese EJ. Low doses of dietary lead are associated with a profound reduction in the time to the onset of puberty in female mice. *Reprod Toxicol*. 2006;22(4):586-90. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Foster WG. Reproductive toxicity of chronic lead exposure in the female cynomolgus monkey. *Reprod Toxicol*. 1992;6(2):123-31. [\[Crossref\]](#)
114. Wiebe JP, Barr KJ, Buckingham KD. Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on gonadotropin receptors and steroidogenesis in rat ovaries. *J Toxicol Environ Health*. 1988;24(4):461-76. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
115. Wide M. Lead exposure on critical days of fetal life affects fertility in the female mouse. *Teratology*. 1985;32(3):375-80. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
116. McMichael AJ, Vimpani GV, Robertson EF, Baghurst PA, Clark PD. The port pirie cohort study: maternal blood lead and pregnancy outcome. *J Epidemiol Commun Health*. 1986;40(1):18-25. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
117. Falcón M, Viñas P, Luna A. Placental lead and outcome of pregnancy. *Toxicology*. 2003;185(1-2):59-66. [\[Crossref\]](#)
118. Hu H, Pepper L, Goldman R. Effect of repeated occupational exposure to lead, cessation of exposure, and chelation on levels of lead in bone. *Am J Ind Med*. 1991;20(6):723-35. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
119. Alexander BH, Checkoway H, van Netten C, Muller CH, Ewers TG, Kaufman JD, et al. Semen quality of men employed at a lead smelter. *Occup Environ Med*. 1996;53(6):411-6. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
120. Alexander BH, Checkoway H, Faustman EM, van Netten C, Muller CH, Ewers TG. Contrasting associations of blood and semen lead concentrations with semen quality among lead smelter workers. *Am J Ind Med*. 1998;34(5):464-9. [\[Crossref\]](#)
121. Assennato G, Paci C, Baser ME, Molinari R, Candela RG, Altamura BM, et al. Sperm count suppression without endocrine dysfunction in lead-exposed men. *Arch Environ Health*. 1987;42(2):124-7. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
122. Eibensteiner L, Del Carpio Sanz A, Frumkin H, Gonzales C, Gonzales GF. Lead exposure and semen quality among traffic police in Arequipa, Peru. *Int J Occup Environ Health*. 2005;11(2):161-6. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
123. Gennart JP, Buchet JP, Roels H, Ghyselen P, Ceulemans E, Lauwerys R. Fertility of male workers exposed to cadmium, lead, or manganese. *Am J Epidemiol*. 1992;135(11):1208-19. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
124. Hu WY, Wu SH, Wang LL, Wang GI, Fan H, Liu ZM. A toxicological and epidemiological study on reproductive functions of male workers exposed to lead. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol*. 1992;36(1):25-30.
125. Lancranjan I, Popescu HI, Gavănescu O, Klepsch I, Serbănescu M. Reproductive ability of workmen occupationally exposed to lead. *Arch Environ Health*. 1975;30(8):396-401. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
126. Lerda D. Study of sperm characteristics in persons occupationally exposed to lead. *Am J Ind Med*. 1992;22(4):567-71. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
127. Plechaty MM, Noll B, Sunderman FW Jr. Lead concentrations in semen of healthy men without occupational exposure to lead. *Ann Clin Lab Sci*. 1977;7(6):515-8.
128. Robins TG, Bormman MS, Ehrlich RI, Cantrell AC, Pienaar E, Vallabh J, et al. Semen quality and fertility of men employed in a South African lead acid battery plant. *Am J Ind Med*. 1997;32(4):369-76. [\[Crossref\]](#)
129. Telisman S, Colak B, Pizent A, Jurasović J, Cvitković P. Reproductive toxicity of low-level lead exposure in men. *Environ Res*. 2007;105(2):256-66. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
130. Meeker JD, Rossano MG, Protas B, Diamond MP, Puschek E, Daly D, et al. Multiple metals predict prolactin and thyrotropin (TSH) levels in men. *Environ Res*. 2009;109(7):869-73. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
131. Selevan SG, Rice DC, Hogan KA, Euling SY, Pfahles-Hutchens A, Bethel J. Blood concentration and delayed puberty in girls. *N Engl J Med*. 2003;348(16):1527-36. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)
132. Wu T, Buck GM, Mendola P. Blood lead levels and sexual maturation in U.S. girls: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Environ Health Perspect*. 2003;111(5):737-41. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#) [\[PMC\]](#)
133. Denham M, Schell LM, Deane G, Gallo MV, Ravenscroft J, DeCaprio AP, et al. Relationship of lead, mercury, mirex, dichlorodiphenyldichloroethylene, hexachlorobenzene, and polychlorinated biphenyls to timing of menarche among Akwesasne Mohawk girls. *Pediatrics*. 2005;115(2):e127-34. [\[Crossref\]](#) [\[PubMed\]](#)