

Kadmiyumun Kortikal Kemik Mineral Yoğunluğu ve Biyomekanik Parametreleri Üzerine Etkisi: Ovariyektomili Sıçan Modeli ile Karşılaştırma

The Effect of Cadmium on Bone Mineral Density and Biomechanical Parameters of Cortical Bone: The Comparison with Ovariectomized Rat Model

Ülkü ÇÖMELEKOĞLU, Serap YALIN*, Selda BAĞIŞ**, Altan YILDIZ***, Oya ÖGENLER, Banu COŞKUN YILMAZ****, Rezan HATUNGİL*****

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik, ***Radyoloji, ****Histoloji ve Embriyoloji ve *****Fizyoloji Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye
Mersin Üniversitesi *Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin, Türkiye

**Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana Araştırma Hastanesi, Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Özet

Amaç: Bu çalışmada osteoporoz için iki önemli risk faktörü olduğu bildirilen kadmiyumun ve ovariyektominin sıçan kortikal kemiği biyomekanik kalitesi üzerine etkilerinin saptanması ve sonuçların karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Deneylerde 21 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol grubu, kadmiyum (Cd) grubu ve ovariyektomi (OVX) olmak üzere üç gruba bölündü. OVX grubundaki sıçanlara bilateral ovariyektomi yapıldı. Cd grubundaki sıçanlara ovariyektomiden 12 hafta sonra, haftada 3 kez 0,5 mg/kg kadmiyum klorür, kontrol grubu ve OVX grubundaki sıçanlara ise saf su 18 hafta boyunca intraperitoneal olarak uygulandı. On sekiz hafta sonunda tüm gruplarda çift enerjili X ışınları absorpsiyometresi kullanılarak kemik mineral yoğunluğu ölçüldü. Daha sonra sıçanlar sakrifiye edilip ve femurları izole edilerek bilgisayarlı tomografi ile kortikal femur kesit alanları ölçüldü. Germe testi ile kemiklerde maksimum kuvvet, deformasyon, kemikte depolanan enerji, sertlik, maksimum stres, maksimum strain ve dayanıklılık değerleri ölçüldü.

Bulgular: OVX grubunda sertlik dışındaki tüm biyomekanik değişkenlerin değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalmıştı ($p < 0,05$). Cd grubu ile kontrol grubu arasında ise ölçülen tüm değişkenlerin değeri kontrol grubuna göre azalmasına rağmen bu azalmalar istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Ancak Cd grubu ile OVX grubu arasında da biyomekanik değişkenler açısından istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmedi.

Sonuç: Sonuç olarak deneysel menoz kadar ağır kemik hasarına yol açmamasına rağmen, düşük doz kadmiyumun da kemiğin biyomekanik kalitesini azaltarak osteoporoz için risk faktörü oluşturduğu düşünüldü. *Türk Fiz Tıp Rehab Derg 2007;53:1-4*

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, ovariyektomi, biyomekanik, kortikal kemik, kemik mineral yoğunluğu

Summary

Objective: Ovariectomy and cadmium have been reported as the two main risk factors for osteoporosis. The goal of the this study was to measure and compare the effects of ovariectomy and long term exposure to low levels of cadmium on the biomechanical quality of cortical bone in rats.

Materials and Methods: In this study, twenty-one female rats were separated randomly to three groups: a control group cadmium (Cd), group and an ovariectomy (OVX) group. OVX rats underwent bilateral ovariectomy via ventral incision. Twelve weeks after the ovariectomy, cadmium chloride was administered to rats Cd as intraperitoneal injection of 0.5 mg/kg three times a week for 18 weeks. Bone mineral density was measured using dual energy X-ray absorptiometry. Cross sectional area of the femoral shaft was evaluated by computerized tomography. Tensile test was performed to measure the maximum load, deformation, energy, ultimate stress, ultimate strain stiffness and toughness of the bone tissue.

Results: In the OVX group, except for the stiffness, all of biomechanical parameters were significantly lower than that of the control group ($p < 0.05$). Biomechanical parameters were reduced in the Cd group in comparison to the controls but this reduction was not significant ($p > 0.05$). Additionally, biomechanical parameters were unchanged in the Cd group when compared to the OVX group.

Conclusion: Even though low levels of cadmium are thought to constitute as a risk factor for osteoporosis by degrading the biomechanical quality of the bone tissue, it is not as serious of a threat as experimental osteoporosis. *Turk J Phys Med Rehab 2007;53:1-4*

Key Words: Cadmium, ovariectomy, biomechanics, cortical bone, bone mineral density

Giriş

Osteoporoz, düşük kemik kütlesi ve kemik dokusunun yapısal bozulması, buna bağlı olarak kemiğin dayanıklılığının azalması sonucunda kırıklara eğilimin artması ile karakterize bir hastalıktır. Osteoporoz için çok sayıda risk faktörü vardır. Yaş, sigara, alkol, düşük fiziksel aktivite, düşük kalsiyum alımı, alüminyum, kadmiyum ve kurşun gibi ağır metaller bu risk faktörlerinden bazılarıdır (1,2).

Bazı araştırmacılar çok toksik ağır metallere kadmiyumun bu risk faktörleri arasında özel bir öneme sahip olduğunu bildirmişlerdir (3). Kadmiyum doğada birçok besinde, suda ve havada bulunmaktadır. Tahıllar 10-150 µg/kg, et, balık ve meyveler ise 1-50 µg/kg civarında kadmiyum içerirler. Günlük tolere edilebilen kadmiyum miktarı Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 60-70 µg'dır. En önemli kadmiyum kaynaklarından biri de sigara-dır. Bir sigara 1-2 µg kadmiyum içerir ve bir sigaradaki kadmiyumun yaklaşık %10'u inhale edilir (0,1-0,2 µg). Bir günde bir paket ya da daha fazla sigara içimi günlük kadmiyum alımını artırır (3). Kadmiyumun kemikteki etkisi ile ilgili farklı mekanizmalar ileri sürülmektedir (4). Bu konudaki görüşlerden biri kadmiyumun böbreklerde biriktiği (yarı ömrü yaklaşık olarak 30 yıl) ve kritik bir konsantrasyona ulaştığında düşük moleküler proteinüri ile karakterize proksimal tübüler disfonksiyona neden olduğu, bunun sonucunda kalsiyum metabolizmasının bozulduğu, D vitamininin böbreklerdeki aktivasyonunun azaldığı ve kemik mineralizasyonu bozduğu şeklindedir (5-8). Deneysel çalışmalar kadmiyumun kemik mineralizasyonunu renal etkiler olmadan doğrudan da etkileyeceğini de göstermektedir (9). İn vitro çalışmalarda doğrudan osteoblast ve osteoklast aktivitesini etkilediği gösterilmiştir (10). Bazı araştırmacılar ise kadmiyumun kemik üzerindeki etkilerini kollajen metabolizmasını bozarak gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Bu araştırmacılara göre kadmiyum kemikteki kollajen içeriğini ve kollajenin çözünürlüğünü azaltmaktadır (11).

Osteoporozun tanısında çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. En sık kullanılan tanı yöntemlerinden biri kemik mineral yoğunluğunun (KMY) ölçülmesidir. Ancak son yıllarda kırık riskinin değerlendirilmesinde KMY'nin ölçümünden çok kemik kalitesinin saptanmasının daha önemli olduğu bildirilmiştir (12). Kemik kalitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden birisi de biyomekanik değerlendirmelerdir.

Bu çalışmada osteoporoz için önemli risk faktörlerinden olan kadmiyumun ve deneysel menopozun kemik mineral yoğunluğu ve kemik biyomekanik parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması ve bu etkilerin karşılaştırılması amaçlandı. Deneysel menopoz oluşturmak için ovariektomili sıçan modeli kullanıldı.

Gereç ve Yöntem

Deneylerde ağırlıkları 240-250 gram arasında değişen 21 adet Sprague-Dawley dişi sıçan (Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kayseri, Türkiye) kullanıldı. Sıçanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda oda sıcaklığı 21°C ve ortalama nem yaklaşık %50 olacak şekilde galvanize kafeslerde tutuldu, deney süresince standart sıçan yemi ile beslendi, su gereksinimleri ad libitum olarak karşılandı. Sıçanlar kontrol grubu, kadmiyum (Cd) grubu ve ovariektomi (OVX) grubu olmak üzere rastgele üç gruba bölündü. Daha sonra OVX grubundaki sıçanlar ketamin ile (Ketalar, Eczacıbaşı İlaç Sanayi, Türkiye) anestezi edilerek ventral insizyondan sonra bilateral ovariektomi yapıldı. Ovariektomiden 12 hafta sonra, Cd grubundaki sıçanlara haftada 3 kez 0,5 mg/kg kadmi-

yum klorür (CdCl₂) 18 hafta boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Kontrol ve OVX grubu sıçanlara ise 18 hafta boyunca distile su i.p. olarak verilmiştir. Sıçanlara tüm işlemler Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun onayından sonra uygulandı.

18 hafta sonunda, küçük hayvan probu kullanılarak, sıçanların çift enerjili X ışınları absorpsiyometrisi (DXA; Norland XR 46) ile kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçüldü (Şekil 1). Bu işlem sıçanlar genel anestezi altında iken ve immobilize edilip, uygun pozisyon verilerek yapıldı. Femur boyun ve femur diafiz bölgeleri işaretlenerek ölçüm yapıldı. Bu işlemde sonra sıçanlara yüksek dozda ketamin uygulanarak sakrifiye edildi. Sıçanların sağ ve sol femurları çıkarıldı. Sol femurlar biyomekanik analiz için sağ femurlar ise kortikal kemik alanının, kortikal kemik kalınlığının saptanması için ayrıldı. Biyomekanik analiz için ayrılan kemikler mekanik test yapıncaya kadar -20°C'de bekletilmiştir. Sağ femurların önce bilgisayarlı tomografi (Siemens Somatom AR 40 Star, Erlangen, Almanya) ile enine kesit görüntüleri elde edildi daha sonra da %10 nötral formalinde fikse edilmiş ve %5'lik nitrik asit çözeltisinde bir gün bekletilerek dekalsifiye edildi.

Biyomekanik Ölçümler

Biyomekanik ölçümler kortikal femurda yapıldı. -20°C'de saklanan femurlar oda sıcaklığına getirildikten sonra biyomekanik cihazına yatay olarak yerleştirildi ve uçları akrilik ile tespit edildi. Daha sonra femurlara laboratuvarımızda mevcut BIOPAC MP 100 sisteme uyumlu biyomekanik cihazı (MAY 03) ile çekme testi uygulandı (Şekil 2). Kuvvet verileri 16 bitlik analog/dijital çevirici ile saniyede 1000 örnek alınarak bilgisayara aktarıldı ve daha sonra analiz yapmak üzere bilgisayarda depolandı. Modülün çekme hızı 1 mm/s, uyguladığı kuvvet ise 5 g/s olarak ayarlandı.

Bilgisayarda depolanan veriler *BIOPAC MP 100 Acquisition System Version 3.5.7* (Santa Barbara, USA) kullanılarak analiz edildi. Bu verilerden yük-deformasyon eğrileri elde edildi. Yük-deformasyon eğrileri normalize edilerek stres-strain eğrisine dönüş-



Şekil 1. Çift enerjili, küçük hayvan probu X-ışınları absorpsiyometrisi ile sıçan femuru kemik mineral yoğunluğunun ölçümü.



Şekil 2. Biyomekanik ölçüm sisteminin genel görünüşü.

türüldü. Yük-deformasyon eğrisinden maksimum kırılma kuvveti, deformasyon, kemikte kırılıncaya kadar depolanan enerji ve sertlik; stres-strain eğrisinden ise stres, strain ve dayanıklılık hesaplandı. Kırılma kuvveti (N) kemiğin kırıldığı andaki kuvvete, deformasyon uygulanan kuvvete karşı kemikte oluşan uzama miktarına (mm) karşılık gelmektedir. Sertlik kuvvet-deformasyon eğrisinin eğiminden ve kemikte depolanan enerji kuvvet-deformasyon eğrisinin altında kalan alandan hesaplandı. Maksimum stres kemiğin kırılmadan önceki stresi, maksimum strain maksimum zorlanma miktarı, dayanıklılık ise stres-strain eğrisinin altında kalan alan olarak alındı.

Kortikal kalınlık ölçümü

Sağ kortikal kemikler %10 nötral formalin ile fikse edilmiş ve %5'lik nitrik asit çözeltisinde bir gün bekletilerek dekalsifiye edilmiştir. Rutin doku takibi uygulanarak parafin bloklar elde edilmiştir. Mikrotomla 5 mm'lik kesitler alındıktan sonra hematoksilen-eozin ile boyanmış ve Olympus BX50 ışık mikroskobu kullanılarak oküler mikrometre ile diafizial kortikal kemik kalınlığı ölçülmüştür.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz SPSS 10.0 programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edildi ve istatistiksel anlamlılığın sınırı $p<0,05$ olarak alındı. Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin normal dağılıma uyup uymadıkları test edildikten sonra istatistiksel analiz ANOVA ile yapıldı. Çoklu karşılaştırma için Tukey testi kullanıldı (13).

Bulgular

Tüm gruplardan elde edilen KMY, kortikal kesit alanı ve kortikal kalınlık değerleri Tablo 1'de biyomekanik değişkenlerin değerleri ise Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 1 incelendiğinde KMY ve kortikal kalınlık değerlerinin OVX grubunda, kontrol ve Cd grubuna göre önemli miktarda azaldığı saptandı. Cd grubunda ise bu değişkenler açısından kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Kortikal kesit alanına ise gruplar arasında önemli bir fark gözlenmedi.

Tablo 2 incelendiğinde ise maksimum kuvvette Cd grubunda kontrol grubuna göre %11 oranında bir azalma gözlenirken ($p=0,128$), OVX grubunda bu azalma %22 ($p=0,05$) olarak bulundu. OVX grubu Cd grubu ile karşılaştırıldığında ise OVX grubunda maksimum kuvvetteki azalma %12 olarak hesaplandı ($p=0,885$). Deformasyon miktarı Cd grubunda kontrole göre %25 azalırken ($p=0,502$), OVX grubunda bu değer %54 ($p=0,04$) olarak bulundu. Deformasyon değeri açısından Cd grubu ile OVX grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmadı ($p=0,375$). Sertlik değerleri arasında gruplar arası önemli bir fark gözlenmedi. Cd grubunda kemikte kırılıncaya kadar depolanan enerji %28 oranında azalırken ($p=0,505$), OVX grubunda bu değer %61 ($p=0,033$) olarak bulundu. Cd ve OVX grupları arasında ise istatistiksel fark gözlenmedi. Maksimum stres, strain ve dayanıklılıkta da benzer değişiklikler gözlemlendi. Maksimum stres Cd grubunda kontrole göre %26 ($p=0,183$), OVX grubunda ise %33 ($p=0,024$) azalmıştı. Cd ve OVX grubu arasındaki fark ise önemli bulunmadı. Maksimum strain ve dayanıklılık Cd grubunda kontrole göre sırasıyla %28 ve %38 ($p=0,342$, $p=0,183$) azalırken, OVX grubunda bu değerler %48 ve %59 ($p=0,04$, $p=0,039$) olarak bulundu. Cd ve OVX grupları arasında ise bu değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Tartışma

Bu çalışmada çok toksik ağır metallere biri olan Cd ile deneysel menopozun kortikal kemik biyomekaniği üzerine etkileri incelenmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Kemik kalitesi OVX grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli miktarda azalırken, Cd grubundaki azalma kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Aynı zamanda OVX grubu ile Cd grubu arasındaki farklar da tüm değişkenler için, istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Tablo 1. Kontrol, Cd ve OVX gruplarından ölçülen KMY, kesit alanı ve kortikal kalınlık değerleri.

Değişkenler	Kontrol n=7	Cd n=7	OVX n=7
KMY (g/cm ²)	0,15±0,028	0,16±0,0019	0,11±0,047*
Kortikal kesit alanı (mm ²)	15,51±2,18	16,61±2,003	14,23±2,82
Kortikal kalınlık (mm)	0,45±0,0057	0,49±0,008	0,33±0,035*

* $p<0,05$ (kontrol grubuna göre)

Tablo 2. Kontrol, Cd ve OVX gruplarına ait biyomekanik değişkenler.

Değişkenler	Kontrol n=7	Cd n=7	OVX n=7
Maksimum kuvvet (N)	325,14±11,52	290,85±95,47	256,24±64,75*
Deformasyon (mm)	2,52±0,85	1,96±0,92	1,18±0,05*
Sertlik (N/mm)	172,15±149,96	201,25±72,84	139,85±57,16
Enerji (mJ)	393,03±135,72	285,86±165,24	153,96±140,66*
Maksimum stres (MPa)	25,55±3,63	19,00±7,73	17,35±4,84*
Maksimum strain (MPa)	0,08±0,02	0,058±0,028	0,036±0,015*
Dayanıklılık (MPa)	0,82±0,35	0,513±0,28	0,34±0,09*

* $p<0,05$ (kontrol grubuna göre)

Kadmiyuma bağlı olarak KMY değerinde ve kortikal kemik kalınlığında bir azalma olmaması kadmiyumun etkisini kalsiyum metabolizması üzerinden göstermesi ile ilişkili olabilir. Kadmiyumun kemik mineralizasyonunu bozduğu ve kemikten kana kalsiyum salınımını arttırdığı bilinmektedir (14-17). Kemikteki kalsiyum düzeyinin azalmasının kendisini KMY değerinin azalması ile göstermesi beklenebilir. Ancak kadmiyum da kalsiyum gibi iki değerlikli bir katyondur ve kemikte depolanma özelliğine sahiptir. Kemikte depolanan bu kadmiyumun kalsiyum gibi davranarak KMY'de ve kortikal kemik kalınlığında bir değişikliğin ortaya çıkmasını engellediği düşünülebilir. Tablo 2'deki biyomekanik değişkenler incelendiğinde sonuçlar istatistiksel olarak önemli olmasa da Cd uygulanan grupta kırılma kuvveti, deformasyon, kemikte depolanan enerji, stres, strain ve dayanıklılığın azaldığı görülmektedir. Bu sonuçlar uygulanan doz ve sürede kadmiyumun kemik üzerine olumsuz etkileri olduğunu ancak menopoz sonrasındaki kadar ağır bir tablonun daha yüksek dozlarda ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Yüksek doz kadmiyuma uzun süreli maruziyetinin insan (18-21) ve deney hayvanlarında (22-24) iskelet sistemi hasarına, kemikte osteoporoz, osteopeni ve osteomalazi gibi kemik kırılabilirliğinde artışa yol açan patolojilere neden olduğu gösterilmiştir. Düşük doz kadmiyumun kemikte oluşturduğu değişiklikler ise çok açık değildir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, iskelet gelişiminin erken dönemlerinde düşük doz Cd maruziyetinin kemikte patolojik değişikliklere yol açabileceği ve iskelet sistemi hasarı için risk faktörü olabileceği ve hasarın gelişiminin diğer dönemlerinde de sürebileceği bildirilmiştir (22). Normal sıçanlarda ve osteoporotik sıçanlarda yaptığımız bir başka çalışmada düşük doz kadmiyumun hem normal kemiğin, hem de osteoporotik kemiğin kalitesini olumsuz etkilediği ancak bu etkinin osteoporotik kemikte daha belirgin olduğu gözlenmiştir (25). Akesson ve ark. (26) tarafından yaşları 53-64 arasında değişen 820 kadında yapılan bir başka çalışmada düşük doz kadmiyumun kemik kalitesini azalttığı ve bu azalmanın menopozla arttığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da kemik kalitesinin önemli göstergelerinden stres, strain, enerji ve dayanıklılık gibi değişkenlerin değerlerinde oluşan azalma, uyguladığımız doz ve süredeki kadmiyumun osteoporoz için risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak düşük doz kadmiyum deneysel menopoz kadar ağır kemik hasarına yol açmasa da kemiğin biyomekanik kalitesini azaltarak osteoporoz için risk faktörü oluşturmaktadır. Günlük yaşamda sebze, meyve, su, sigara gibi önemli kadmiyum kaynaklarına sürekli maruz kalınarak bu risk artırılmaktadır.

Kaynaklar

- Lane N, Dequeker J, Mundy GR. Bone structure and function. In: Hochberg M Silman AJ, editors. Rheumatology, Philadelphia: Mosby, 2003. p. 2029-42.
- Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, Scott JC, Black D. Risk of mortality following clinical fractures. Osteoporos Int 2000;11:556-61.
- Goyer RA, Clarkson TW. Toxic effects of metals. In: Amdur MO, Daull J, editors. Casarett and Daull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 6 th ed. Toronto: Mc Graw Hill Company; 2001. p. 822.
- Kjellstrom T. Mechanism and epidemiology of bone effects of cadmium. IARC Sci Publ 1992;18:301-10.
- Buchet J, Lauwerys R, Roels H, Bernard A, Bruaux P, Claeys F, et al. Renal effects of cadmium body burden of the general population. Lancet 1990;336:699-702.
- Jarup L, Alfven T, Persson B, Toss G, Elinder CG, Persson B, et al. Cadmium may be a risk factor for osteoporosis. Occup Environ Med 1998;55:435-9.
- Nogawa K, Tsuritani I, Kido T, Honda R, Yamada Y, Ishizaki M. Mechanism for bone disease found in inhabitants environmentally exposed to cadmium: decreased serum 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D level. Int Arch Occup Environ Health 1987;59:21-30.
- Tsuritani I, Honda R, Ishizaki M, Yamada Y, Kido T, Nogawa K. Impairment of vitamin D metabolism due to environmental cadmium exposure, and possible relevance to sex-related differences in vulnerability to the bone damage. J Toxicol Environ Health 1992;37:519-33.
- Roels H, Bernard AM, Cardenas A, Buchet JP, Lauwerys RR, Hotter G, et al. Markers or early renal changes induced by industrial pollutants, III: application to workers exposed to cadmium. Br J Ind Med 1993;50:37-48.
- Iwami K, Moriyama T. Comparative effect of cadmium on osteoblastic cells and osteoclastic cells. Arch Toxicol 1993;67:352-7.
- Galicka A, Brzoska MM, Sredzinska K, Gindzienski A. Effect of cadmium on collagen content and solubility in rat bone. Acta Biochim Pol 2004;51:825-9.
- NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA 2001;285:785-95.
- Glantz SA. Primer of biostatistics. 5 th ed. New York: Mc Graw Hill 2002. p. 100-1.
- Choi JH, Rhee IK, Park KY, Kim JK, Rhee SJ. Action of green tea catechin on bone metabolic disorders in chronic cadmium-poisoned rats. Life Sci 2003;73:1479-89.
- Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Iwata H, Toyota N, Tsuchitani M, et al. Cadmium-induced osteomalacic and osteopetrotic lesions in ovariectomized rats. Toxicol Appl Pharmacol 1994;126:58-68.
- Ohta H, Yamauchi Y, Nakakita M, Tanaka H, Asami S, Seki YH, et al. Relationship between renal dysfunction and bone metabolism disorder in male rats after long-term oral quantitative cadmium administration. Ind Health 2000;38:339-55.
- Uriu K, Morimoto I, Kai K, Okazaki Y, Okada Y, Qie YL, et al. Uncoupling between bone formation and resorption in ovariectomized rats with chronic cadmium exposure. Toxicol Appl Pharmacol 2000;164:264-72.
- Alfven T, Elinder CG, Carlsson MD, Grubb A, Hellstrom L, Persson B, et al. Low level cadmium exposure and osteoporosis. J Bone Miner Res 2000;15:1579-86.
- Aoshima K, Fan J, Cai Y, Katoh T, Teranishi H, Kasuya M. Assessment of bone metabolism in cadmium-induced renal tubular dysfunction by measurements of biochemical markers. Toxicol Lett 2003;136:183-92.
- Kasuya M, Aoshima K, Katoh T, Teranishi H, Horiguchi H, Kitagawa M, et al. Natural history of Itai-itai disease: a long-term observation on the clinical and laboratory findings in patients with Itai-itai disease. In: Cook ME, Hiscock SA, Morrow HRA editors. Proceedings of the Seventh Cadmium International Conference. Cadmium Association, London, 1992; p. 180-92.
- Staessen JA, Roels HA, Emelianov D, Kuznetsova T, Thijs L, Vangronsveld J, et al. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study. Lancet 1999;353:1140-4.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. Disorders in bone metabolism of female rats chronically exposed to cadmium. Toxicol Apply Pharmacol 2005;202:68-83.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk M, Galazyn-Sidorczuk M, Rogalska J. The effect of zinc supply on cadmium-induced changes in the tibia of rats. Food Chem Toxicol 2001;39:729-34.
- Whelton BD, Peterson DP, Moretti ES, Dare H, Bhattacharyya MH. Skeletal changes in multiparous, nulliparous and ovariectomized mice fed either a nutrient-sufficient or -deficient diet containing cadmium. Toxicology 1997;119:103-21.
- Comelekoglu U, Yalin S, Bagis S, Ogenler O, Sahin NO, Yildiz A, et al. Low-exposure cadmium is more toxic on osteoporotic rat femoral bone: Mechanical, biochemical, and histopathological evaluation. Ecotoxicol Environ Saf 2007;66:267-71.
- Akesson A, Bjellerup P, Lundh T, Lidfeldt J, Nerbrand C, Samsioe G, Skerfving S, Vahter M. Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. Environ Health Perspect 2006;114: 830-4.