

Endokrine ćelije pankreasa u pacova hronično tretiranih kadmijumom

Nina Jančić¹, Ivan Rančić¹, Janko Žujović², Velimir Milošević³

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš, Srbija

²Centar za abdominalnu hirurgiju, Klinički Centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

³Klinika za Gastroenterologiju i Hepatologiju, Klinički Centar Crne Gore, Podgorica, Crna Gora

Apstrakt

Kadmijum (Cd) je mekan srebrenasto-beli metal, jedan od 126 prioritetsnih zagadivača, a svrstan je i u grupu humanih karcinogena I kategorije. Cilj rada je mikromorfološko i funkcionalno ispitivanje endokrinog pankreasa pacova hronično tretiranih kadmijumom. Za istraživanje su korišćeni beli Wistar pacovi ženskog pola, starosti 35-37 dana, težine 120-140 g. Ukupno je bilo 22 životinje koje su podeljene na kontrolnu (n=11) i eksperimentalnu grupu (n=11). Eksperimentalna grupa je svakodnevno tretirana sa 15 mg/kg CdCl₂ rastvorenog u pijaćoj vodi. Kontrolna grupa nije bila podvrgnuta nikakvom tretmanu. Svi pacovi su čuvani u kontrolisanim laboratorijskim uslovima. Posle tri meseca, sve životinje su žrtvovane. Tkivo pankreasa je rutinski obradeno i kalupljeno u parafin. Na 4 µm presećima su primenjene HE i imunohistohemijska ABC metoda sa antitelima na: chromogranin A, insulin, glucagon, somatostatin, pankreasni polipeptid, i peptid YY. U životinja eksperimentalne grupe su nađene guste, hiperplastične B ćelije koje zaposedaju skoro čitavu površinu insule. Prisutna je i hiperplazija A ćelija sa izraženom funkcionalnom aktivnošću. Osim po obodu hiperplastičnih insula, pojedinačne A ćelije se nalaze i u acinusima u kojima je njihova aktivnost znatno povećana. Zapažen je povećan mitotski indeks i odsustvo citoplazmatskih produžetaka D ćelija. Izražena je hiperplazija PP ćelija, sa znacima kako morfološkog tako i funkcionalnog polimorfizma. Prisustvo PP ćelija je evidentirano i u hiperplastičnom i displastičnom epitelu većih duktusa. Samo u životinja eksperimentalne grupe smo našli ćelije koje sekretuju peptid YY. Ove ćelije imaju identičnu topografiju kao i A ćelije, ali je njihov broj znatno manji. Hronično izlaganje kadmijumu remeti strukturu i funkciju endokrinog pankreasa. Sve pankreasne endokrine ćelije su pogodjene.

Ključne reči: endokrine ćelije pankreasa, pacovi, kadmijum, trovanje, imunohistohemija

Endocrine pancreas in rats chronically treated with Cadmium

Nina Jančić¹, Ivan Rančić¹, Janko Žujović², Velimir Milošević³

¹University of Nis, Faculty of Medicine, Nis, Serbia

²Center for Abdominal Surgery, Clinical Center of Montenegro, Podgorica, Montenegro

³Department of Gastroenterology and Hepatology, Clinical Centre of Montenegro, Podgorica, Montenegro

Abstract

Cadmium is a soft silvery-white metal, one of the 126 priority pollutants, and is also classified in the group of category I human carcinogens. The aim of the study is the micromorphological and functional examination of the endocrine pancreas of rats chronically treated with cadmium. Albino female Wistar rats, 35-37 days old, weight 120-140 g have been used for research. In total, 22 animals have been divided into control (n=11) and experimental group (n=11). The experimental group has been treated 15 mg/kg of CdCl₂, dissolved in drinking water. The control group hasn't received any treatment. All rats have been kept in controlled laboratory conditions. Three months later, all animals have been sacrificed. Pancreatic tissue has been routinely processed and embedded in paraffin. The 4 µm paraffin sections have been stained with H&E and ABC immunohistochemical method with specific antibodies for: chromogranin A, insulin, glucagon, somatostatin, pancreatic polypeptide, and peptide YY. Dense, hyperplastic B cells that occupy almost the entire surface of the insula were found in experimental group. A cell hyperplasia with a pronounced functional activity is also present. A cells are also found, besides on the periphery of the hyperplastic insulae, in the acini, with significantly increased activity. Increased mitotic index and an absence of D cell cytoplasmic extensions is observed. A PP cell hyperplasia, with signs of morphological and functional polymorphism is expressed. The presence of PP cells is also recorded in the hyperplastic and dysplastic epithelium of larger ducts. Only in the experimental group have we found cells that secrete peptide YY. These cells have an identical topography as A cells, but their number is much smaller. Chronic exposure to cadmium disrupts the structure and function of endocrine pancreas. All pancreatic endocrine cells have been affected.

Key words: pancreas endocrine cells, rats, cadmium, toxicity, immunohistochemistry

Uvod

Kadmijum je mekan srebrnasto-beli metal, koji se u prirodi nalazi zajedno sa cinkom i živom . Kadmijum i njegova jedinjenja se koriste za zaštitu od korozije, za proizvodnju alkalnih akumulatora, nikl-kadmijumskih baterija, proizvodnju legura bakra i kao pigment ili stabilizator u proizvodnji boja, stakla, keramike i plastike^{1,2}. Industrija čelika i spaljivanje otpadaka su najvažniji antropogeni izvori kadmijuma. Prirodni izvor kadmijuma su vulkanske erupcije i šumski požari³. Intenzivna upotreba veštačkih đubriva izaziva difuzno zagađenje zemljišta i vode kadmijumom, što je uslovilo da se on nalazi u životinjskom mesu, ribi, povrću i voću, tako da je kontaminirana hrana glavni izvor izloženosti stanovništva kadmijumu⁴. Koncentracija kadmijuma u hrani zavisi od tipa hrane i nivoa spoljašnje kontaminacije. Visoka koncentracija je prisutna u iznutricama, zatim kod rakova i mekušaca. Hrana biljnog porekla sadrži veće koncentracije kadmijuma od mesa, jaja, mleka i mlečnih proizvoda^{5,6}. Takođe važan izvor ekspozicije kadmijumu je i duvanski dim. Procenjeno je da se preko duvanskog dima oko 50% kadmijuma apsorbuje iz pluća u sistemsku cirkulaciju⁷.

Zbog izrazite toksičnosti i velike rasprostanjenosti u prirodi kadmijum je od strane Američke agencije za zaštitu životne sredine svrstana u 126 prioritetnih zagađivača⁸.

Izloženost kadmijumu je povezana sa karcinomom nasofaringsa, pluća, pankreasa, jetre, bubrega, dojke, prostate i mokraćne bešike u ljudi^{9,10,11}. Zbog toga su Internacionala Agencija za Istraživanje Kancera (International Agency for Research on Cancer) i Nacionalni Toksikološki Program SAD (National Toxicology Program of the USA) svrstali kadmijum u grupu humanih karcinogena I kategorije^{11,12}.

Obzirom da o uticaju kadmijuma na endokrini pankreas postoje veoma oskudni podaci u literaturi cilj našeg istraživanja je mikromorfološko i funkcionalno ispitivanje endokrinog pankreasa pacova hronično tretiranih kadmijumom.

Materijal i metode

Za eksperiment su korišćeni beli Wistar pacovi ženskog pola, starosti 35-37 dana, težine 120-140g. Ukupno je bilo 22 životinje koje smo podelili na kontrolnu (n=11) i eksperimentalnu (studijsku) grupu (n=11). Pacovi iz eksperimentalne grupe su svakodnevno pili 15mg/kg CdCl₂ rastvorenog u pijaćoj vodi. Životinje iz kontrolne grupe nisu bile podvrgnute nikakvom tretmanu. Svi pacovi su čuvani u kontrolisanim uslovima laboratorijske štale (dvanaestočasovni ciklus svetlost/tama, na 22+- 2°C). Hranjeni su standardnom laboratorijskom hranom za pacove i pili česmenu vodu „ad libitum“. Posle 90 dana od početka tretmana sve životinje su žrtvovane.

Tkivo pankreasa je fiksirano u rastvoru Bouin-a, rutinski obrađeno u autotehnikonu i kalupljeno u parafin. Na presecima debljine 4µm su primenjene rutinska H&E i immuncitohemijska ABC metoda sa antitelima na: chromogranin A (1:3000, DAKO, Denmark), insulin (1:1600, DAKO, Denmark), glucagon (1:1400, Milab, Sweden), somatostatin(1:1600, DAKO, Denmark), pankreasni polipeptid (1:200, Milab, Sweden) i peptid YY (1:1600, Milab, Sweden).

Rezultati

Rezultati ispitivanja tkiva pankreasa životinja kontrolne grupe

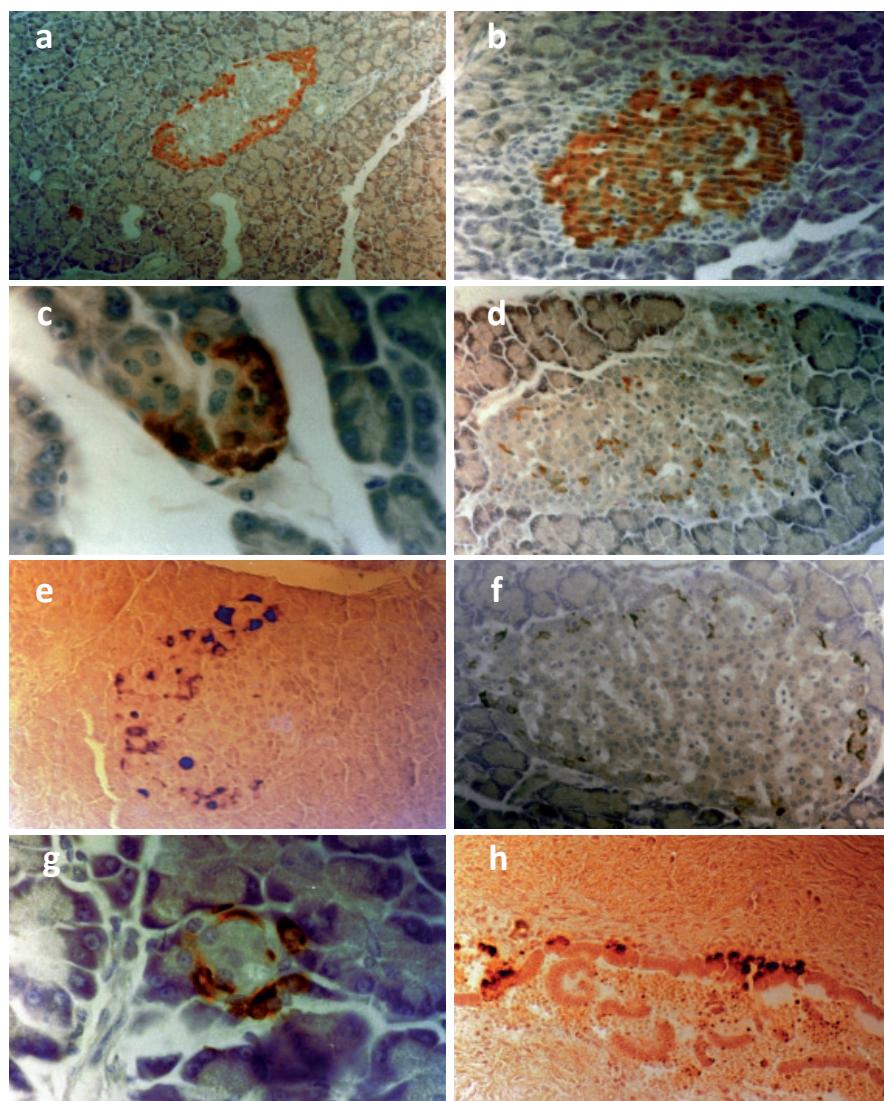
Ispitivanjem pankreasa životinja kontrolne grupe, rutinskim HE bojenjem su verifikovane insule u celom pankreasu, ali sa najvećom distribucijom u telu i repu pankreasa. Insule su ovoidnog ili okruglog oblika, uglavnom identične po veličini.

Imunohistohemijskom analizom je zapaženo da B ćelije koje sadrže depozite insulinina pokazuju uobičajenu lokalizaciju (zgomilane su u centru insula) i umerenu funkcionalnu aktivnost, dok su A ćelije sa perinuklearnim depozitom glukagona lokalizovane na periferiji insula. U životinja kontrolne grupe D ćelije koje produkuju somatostatin su lokalizovane najčešće paracentralno ili ređe po periferiji insula, ali za

razliku od glukagonskih ćelija sadrže kratke citoplazmatke nastavke. PP-ćelije se najčešće nalaze u insulama nepravilnog oblika, lokalizovanim u zadnjem delu glave pankreasa, dok insule ostalih delova žlezde sadrže samo pojedinačne PP-ćelije, po periferiji insula.

Rezultati ispitivanja tkiva pankreasa životinja eksperimentalne grupe

U životinja eksperimentalne grupe su nađene guste, hiperplastične B ćelije koje zaposedaju skoro čitavu površinu insule, sem periferije (Slika 1a.). U ovih životinja je prisutna i hiperplazija glukagonskih ćelija sa izraženom funkcionalnom aktivnošću. Osim po obodu hiperplastičnih insula (Slika 1b.) pojedinačne glukagonske ćelije su prisutne i u acinusima, u kojima je njihova aktivnost znatno povećana (Slika 1c.). U pacova eksperimentalne grupe se zapaža "pomeranje" somatostatinskih ćelija ka centralnim delovima insula (Slika 1d). Kod ovih ćelija je upadljiva i njihova morfološka transformacija koja se manifestuje kroz povećan mitotski indeks i odsustvo citoplazmatskih produžetaka. Takođe je nađena izražena hiperplazija PP endokrinih ćelija sa znacima kako morfološkog tako i funkcionalnog polimorfizma (Slika 1e.). Prisustvo imunoreaktivnih PP ćelija je evidentirano i u hiperplastičnom i displastičnom epitelu većih duktusa (Slika 1f.). Jaka imunoreaktivnost PP ćelija je nađena i multifokalno unutar acinusa (Slika 1g.).



Slika 1.Endokrine ćelije pankresa u pacova hronično tretiranih kadmijumom: a) izražena hiperplazija B-ćelija; b) hiperplazija A-ćelija; c) prisustvo A-ćelija u acinusima; d) "pomeranje" D-ćelija ka centru insula i gubitak citoplazmatskih produžetaka; e) hiperplazija polimorfnih PP-ćelija; f) PP-ćelije u duktalnom epitelu; g) pojedinačne PP-ćelije u acinusima; h) PYY-ćelije na obodu insula.

Samo u životinja eksperimentalne grupe smo našli ćelije koje sekretuju peptid YY (PYY). Ove ćelije imaju identičnu topografiju kao i A ćelije, ali je njihov broj znatno manji (Slika 1h.). Retke, pojedinačne ćelije koje sadrže peptid YY su bile prisutne i u acinusima i u epitelu duktusa.

Za razliku od tkiva pankreasa životinja kontrolne grupe kod kojih su endokrine ćelije lokalizovane isključivo u insulama, u pacova eksperimentalne grupe endokrine ćelije su osim u insulama nadjene i u acinusima i u epitelu duktusa.

Diskusija

U ljudi kadmijum najčešće ulazi u organizam inhalacijom, preko digestivnog trakta i preko kože. Kada dospe u cirkulaciju kadmijum se transportuje do depoa. Ranije se smatralo da se oko 50% kadmijuma akumulira samo u jetri, bubrežima ili mišićima, međutim ispitivanja koncentracija kadmijuma u štitastoj žlezdi u bolesnika obolelih od „itai itai“ su pokazala da se tkivna koncentracija kadmijuma u tireoideji, kod muškaraca, nalazi na drugom mestu, iza koncentracija kadmijuma u jetri, a kod žena na trećem mestu, iza jetre i pankreasa¹³. Kadmijum se eliminiše iz organizma urinom i preko digestivnog trakta, ali zbog prekomerne akumulacije u krvi i u depoima i male ekskrecije on ima biološki poluživot čak od 15-40 godina⁹. Procenjeno je da više od 80% kadmijuma koji se unese hranom dolazi od cerealija, povrća i paradajiza¹⁴. Zapaženo je da žene imaju viši nivo kadmijuma od muškaraca. Smatra se da je razlog tome njegova povećana intestinalna apsorpcija iz hrane kod niskih depoa gvožđa, što je često kod žena u fertilnom dobu, a naročito u toku trudnoće¹⁵.

Nakon apsorpcije kadmijum cirkuliše se vezan za albumin transportuje u jetru i preuzimaju ga hepatociti. U jetri može da se veže za proteine bogate cisteinom - metalotioneine (MT), koji mogu da koncentrišu kadmijum do 3000 puta⁸, tako da metalotionein funkcioniše kao efikasan intracelularni detoksikator. Protektivna uloga MT kod kadmijumske toksičnosti je potvrđena ne samo kod akutnog trovanja ovim metalom nego i kod hronične kadmijumske toksičnosti i kadmijumske karcinogeneze¹⁶. Tokom vremena se MT-kadmijum kompleks oslobađa iz jetre i cirkuliše najčešće u depoe gde se akumulira¹⁷.

Kadmijum je nespecifičan toksikant koji reaguje sa brojnim ćelijskim komponentama i lako ulazi u ćeliju preko L-tipa voltažnih i receptor-modulisanih kalcijumskih kanala¹⁸. Kadmijum se akumulira zbog vezivanja za citoplazmu i jedarne supstance, kao i zbog spore ekskrecije, pa vremenom uzrokuje različite negativne efekata na ljudsko zdravlje¹⁷. Pri hroničnoj ekspoziciji, pored lokalnih iritativnih efekata, nastaju i sistemski efekti na plućima, bubrežima, jetri, testisima, kostima, mozgu i u perifernoj krvi^{19,20}.

Proučavanjem endokrinog pankreasa životinja kontrolne grupe, konstativali smo prisustvo endokrinskih ćelija isključivo unutar ostrvaca. Ispitivanjem tkiva pankreasa pacova nakon hroničnog tretmana kadmijumom endokrine ćelije su osim u insulama nadjene i u acinusima i u epitelu duktusa.

U svih životinja, eksperimentalne grupe smo zapazili izraženu hiperplaziju A i B – endokrinskih ćelija, pri čemu su pojedinačne A ćelije, osim po periferiji insula bile prisutne i u acinusima. U humanoj patologiji hiperplazija B ćelija je najčešće posledica povišenog nivoa glukoze i vidja se u fetusa čije su majke dijabetičarke i u gojavnih osoba²¹, a poznato je da ova hiperinzulinemija fetusa, ošteteće ventromedijalni deo hipotalamus, koji kontroliše sekreciju insulinina modulacijom tonusa n. vagusa²². Hiperplazija A ćelija se u humanoj patologiji sreće kod pacijenata sa akromegalijum, kalcifikujućim pankreatitisom, hroničnim recidivirajućim pankreatitisom i pankreatitisom zbog opstrukcije duktusa. A-ćelije sekretuju glukagon, ali se u njihovim granulama stvara/kolokalizuje i glicentin, GIP, endorfin, CCK, ACTH-like peptid i peptid YY. Tumori A-ćelija – glukagonomi su najčešće udruženi sa dijabetes melitusom, Zollinger-Ellison-ovim sindromom i multipnom endokrinom adenomatozom. Nezidioblastoza A-ćelijskog tipa (prisustvo A-endokrinskih ćelija u egzokrinom pankreasu tj u acinusima i periduktalno) koju smo verifikovali u svih eksperimentalnih životinja je izuzetno retka pojava u humanoj patologiji. Obično je udružena sa glukagon-producujućim mikro-ili makroadenomom pankreasa i to bez tipičnog glukagonoma sindroma²³. Pored toga nezidioblastoza A-ćelija je opisana i kod hipergastrinemije. Navedeni nalazi pokazuju da hronična endogena hipergastrinemija promoviše proliferaciju i diferencijaciju ćelija ostrvaca i stimuliše sekretornu funkciju A-

ćelija, čime se dobijaju dokazi za trofičko i sekretogogno dejstvo gastrina na endokrini pancreas²⁴.

U pankreasnom tkivu životinja tretiranih kadmijumom je prisutna izražena hiperplazija polimorfnih PP-endokrinskih ćelija, koje smo osim u insulama verifikovali i u epitelu većih duktusa i u acinusima. PP-ćelije sekretuju pankreatični polipeptid koji ima slična farmakološka dejstva kao i glukagon. Fiziologija PP-a je još nedovoljno ispitana, ali je zapaženo da u farmakološkim dozama izaziva pojačanje crevnog motiliteta i tonusa žučne kese i inhibiciju pankreasne sekrecije. U fiziološkim količinama inhibiše pankreasnu sekreciju bikarbonata i tripsina, kao i bilirubina u žučnom sadržaju. Ovaj hormon ima visoke vrednosti u bolesnika sa endokrinim tumorima pankreasa (gastrinoma, insulinoma, glukagonoma, somatostatinoma, VIP-oma), pa ga smatraju markerom pankreasnih neuroendokrinskih tumora²⁵. Gepts i sar. su davno zapazili hiperplaziju PP ćelija i kod bolesnika sa juvenilnim dijabetesom²⁶. U naših eksperimentalnih životinja je konstatovana i hiperplazija D ćelija koje sekretuju somatostatin. Hiperplazija somatostatinskih ćelija je opisana u dijabetesu tip 2 kod ljudi i pacova²⁷.

Samo u tkivu pankreasa pacova tretiranih kadmijumom smo konstatovali pojavu i hiperplaziju peptid YY ćelija, osim u insulama i u epitelu duktusa. U humanoj patologiji PYY-ćelije su najbrojnije u donjim partijama ileuma, kolonu i u rektumu, gde su lokalizovane u dubokim delovima Liberkinovih kripti. Pripadaju "open cell" tipu, tj. pružaju se od bazalne membrane do lumena creva. Sitne intracitoplazmatske granule, ovih ćelija, produkuju peptid YY, za koga je, imunoenzimskim reakcijama, utvrđeno da se zajedno sa glukagonom nalazi i u A-ćelijama pankreasa, kao i u L-ćelijama kolona sa enteroglukagonom. Studije su pokazale da peptid YY inhibiše glukozom stimulisanu insulinsku sekreciju u pankreasu pacova, psa i miša. Obzirom da je on kolokalizovan sa glukagonom u A-ćelijama endokrinog pankreasa, postoji predpostavka da peptid YY može imati direktni lokalni inhibitorni efekat na B-ćelije. Smatra se da endogeni PYY može biti fiziološki inhibitor pankreasne sekrecije i preko negativne feedback veze i da njegovo oslobođanje može biti kontrolisano od strane somatostatina²⁸. Dalje se smatra da peptid YY može biti regulatorni peptid pankreasnih ostrvaca, uključujući se i u rad enteroinsularne ose. On reguliše funkciju creva i pankreasa regulišući rast, varenje i apsorpciju. Pored svoje fiziološke uloge, peptid YY pokazuje imunološka i antitrofična svojstva u pankreasu, smanjujući oslobođanje citokina i amilaze. Pored poboljšanja inflamacije u pankreasu, razvijeni su novi sintetski analozi peptoda YY koji su jaki inhibitori proliferacije ćelija karcinoma pankreasa²⁹.

Mehanizam odgovoran za ćelijsku akumulaciju metalija još uvek nije sasvim razjašnjen ali je još sedamdesetih godina, prošlog veka, zapaženo da ćelije izložene kadmijumu pokazuju značajne promene ćelijskih organela koje se manifestuju dezintegracijom ribozoma, destrukcijom EPR i otokom mitohondrija²⁰ koji je udružen sa abnormalnom acidifikacijom zbog produkcije laktata, što ukazuje na poremećaj oksidativnog metabolizma. Vezujući se za unutrašnju membranu, kadmijum ubrzava lipidnu peroksidaciju i remeti integritet mitohondrijalne membrane³¹.

Kasnijim saznanjima je utvrđeno da kadmijum u ćelijama sisara i u kulturama ćelija direktno inhibira ili stimuliše aktivnost različitih enzima, remeti adekvatno formiranje membranskih i sekretujućih proteina i smanjuje koncentraciju intracelularnih anti-oksidanasa (uglavnom glutation-GSH) i čistača slobodnih radikala (vitamin E i C)³². Time kadmijum usmerava citoplazmatsko redoks stanje ka oksidaciji, sa povećanim reaktivnim kiseoničnim radikalima (RKR)³³. U drugim studijama je zapaženo da kadmijum, osim što povećava produkciju reaktivnih kiseoničnih radikala (RKR) (11) menja i ekspresiju različitih gena, koji dovode do zastoja u ćelijskom ciklusu³⁴, zatim izaziva mutacije gena, oštećenja hromozoma i poremećaj mehanizma DNK-a popravke¹². Kadmijum-indukovani oksidativni stres uzrokuje ne samo DNK oštećenje (mutacije) i oksidaciju proteina nego i peroksidaciju lipida³⁵, što rezultuje oštećenjem različitih organa.

U literature je usaglašen stav da su mitohondrije ključne intracelularne mete za kadmijum zbog njihove sposobnosti da ga akumuliraju³¹. Postoji sugestija da je mitohondrijalna disfunkcija najraniji događaj u citotoksičnosti teškim metalima³⁶. Od strane drugih autora je istaknuto da se produkcija reaktivnih kiseoničnih radikala (RKR) pokazala kao jedan od prvih koraka u kadmijumom indukovanoj citotoksičnosti koja prethodi mitohondrijalnom oštećenju^{35,37}.

Na osnovu naših rezultata se zaključuje da hronična ekspozicija kadmijumu remeti strukturu i funkciju endokrinog pankreasa, pri čemu su pogodene sve pankreasne endokrine ćelije.

Literatura

1. Dover EN, Patel NY, Stýblo M. [Impact of in vitro heavy metal exposure on pancreatic β-cell function](#). Toxicol Lett. 2018;299:137-144.
2. Turner A. [Cadmium pigments in consumer products and their health risks](#). Sci Total Environ. 2019;657:1409-1418.
3. Marcano LBC, Carruyo IM, Montiel XM, Morales CB, deSoto PM. Effect of cadmium on cellular viability in two species of microalgae (*Scenedesmus* sp. and *Dunaliella viridis*). *Biol. Trace Elem. Res.* 2009;130(1):86-93.
4. Hogervorst J, Plusquin M, Vangronsveld J, Nawrot T, Cuypers A, Van Hecke E, Roels HA, Carleer R, Staessen JA. House dust as possible route of environmental exposure to cadmium and lead in the adult general population. *Environ. Res.* 2007;103:30-37.
5. Lima CAI, Pestana IA, Azevedo LS, Ribeiro DP, Almeida MG, Prins CL, Marciano CR, Souza CMM. [Bioconcentration and translocation of Cd and Hg in a tomato \(*Solanum lycopersicum*\) from cultivated soils in southeastern Brazil](#). Environ Monit Assess. 2019;191(2):103.
6. Abnosi MH, Golami S. [Cadmium chloride treatment of rats significantly impairs membrane integrity of mesenchymal stem cells via electrolyte imbalance and lipid peroxidation, a possible explanation of Cd related osteoporosis](#). Iran J Basic Med Sci. 2017;20(3):280-287.
7. Richter P, Farooq O, Pappas RS. [Cadmium and Cadmium/Zinc Ratios and Tobacco-Related Morbidities](#). Int J Environ Res Public Health. 2017;14:(10).
8. Nordberg GF, Nogawa K, Nordberg M, Friedmann JM. Cadmium. In: Nordberg G.F., Fowler B.A., Nordberg M., Friberg L., (Eds.), *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier, Amsterdam, 2007; pp.445-486
9. Peng L, Huang YT, Zhang F, Chen JY, Huo X. [Chronic cadmium exposure aggravates malignant phenotypes of nasopharyngeal carcinoma by activating the Wnt/β-catenin signaling pathway via hypermethylation of the casein kinase 1α promoter](#). Cancer Manag Res. 2018;11:81-93.
10. Cartularo L, Laulicht F, Sun H, Kluz T, Freedman JH, Costa M. [Gene expression and pathway analysis of human hepatocellular carcinoma cells treated with cadmium](#). Toxicol Appl Pharmacol. 2015;288(3):399-408.
11. International Agency for Research on Cancer(IARC). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Cadmium and Cadmium Compounds, 2012;100C:121-145
12. National Toxicology Program(NTP): 12th Report on Carcinogens, National Institution of Environmental Health Sciences, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, NC,2011, p.80-82.
13. Ware, G. *Reviews of environmental contamination and toxicology*. Springer, London 2007, pp 48-55.
14. Olsson IM, Bensryd I, Lundth T, Ottosson H, Skerfving S, Oskarsson A. Cadmium in blood and urine-impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking-association of renal effects. *Environ. Health Perspect* 2002; 110:1185-1190
15. Vahter M, Akesson A, Liden C, Ceccatelli C, Berglund M. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ. Res.* 2007;104:85-95
16. Klaassen CD, Liu J, Diwan BA. Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009;238:215-220.
17. Järup L, Åkesson M. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 238:201-208.
18. Martelli A, Rousselet E, Dycce C, Bouron A, Moulis JM. Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. *Biochimie*. 2006; 88:1807-1814.
19. Andujar P, Bensefa-Colas L, Descatha A. Acute and chronic cadmium poisoning. *Rev Med Intern*; 2010;31:107-115.
20. Govei N, Chaudhary S, Waseem M, Parvez S. Postnuclear Supernatant: An In Vitro Model for Assessing Cadmium-Induced Neurotoxicity. *Biol Trace Elem Res* 2012;146:402–409
21. Holemans K, Aerts L, Van Assche FA. [Lifetime consequences of abnormal fetal pancreatic development](#). *J Physiol.* 2003;547(Pt 1):11-20
22. Plagemann A, Heidrich I, Rohde W, Gotz F, Dörner G. Hyperinsulism during differentiation of the hypothalamus is a diabetogenic and obesity risk factor in rats. *Neuroendocrinology Letters*. 1992;5:373-378
23. Kang H, Kim S, Lim TS, Lee HW, Choi H, Kang CM, Kim HG, Bang S. [A case of alpha-cell nesidioblastosis and hyperplasia with multiple glucagon-producing endocrine cell tumor of the pancreas](#). *Korean J Gastroenterol*. 2014;63(4):253-7
24. Bani Sacchi T, Bani D, Biliotti G. [Nesidioblastosis and islet cell changes related to endogenous hypergastrinemia](#). *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1985;48(3):261-76
25. Schwartz TW. [Pancreatic-polypeptide \(PP\) and endocrine tumours of the pancreas](#). *Scand J Gastroenterol Suppl.* 1979;53:93-100
26. Gepts W, de Mey J. Pancreatic polypeptide. *Diabete Metab*. 1978 Dec;4(4):275-83

27. Alán L, Olejár T, Cahová M, Zelenka J, Berková Z, Smětáková M, Saudek F, Matěj R, Ježek P. Delta Cell Hyperplasia in Adult Goto-Kakizaki (GK/MolTac) Diabetic Rats. J Diabetes Res. 2015;2015:385-395.
28. Kiessl GR, Laessle RG. Stress inhibits PYY secretion in obese and normal weight women Eat Weight Disord. 2016;21(2):245-9.
29. Alosi JA, McFadden DW. Peptide YY mediates inhibition of tumor growth and inflammation. Methods Mol Biol. 2009;512:377-94
30. Kawahara H, Takashima Y, Nakamura M, Yamagami A. Electron microscopic study of the cytotoxicity of cadmium and mercury in vitro. J Dent Res. 1975; 54(1):125-30
31. Cannino G, Ferruggia E, Luparello C, Rinaldi AM. Cadmium and mitochondria. Mitochondrion 2009;9:377-384.
32. Huang CL, Sun L, Moonga BS, Zaidi M. Molecular physiology and pharmacology of calcitonin. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand) 2006; 52(3):33-43.
33. Petering DH, Krezoski S, Tabatabai NM. Metallothionein toxicology: metal ion trafficking and cellular protection. Met Ions Life Sci 2009;5:353-397
34. Zhou T, Jia X, Chapin RE, Maronpot RR, Harris MW, Liu J, Waalkes MP, Eddy EM. Cadmium at a non-toxic dose alters gene expression in mouse testes, Toxicol. Lett. 2004;154:191-200.
35. Cuypers A, Plusquin M, Remans T, Jozefczak M, Keunen E, Gielen H, Opdenakker K, Nair R.A., Munters E, Artois T.J., Nawrot T, Vangronsveld J, Smeets K. Cadmium stress:an oxidative challenge. Biometals 2010;23: 927-940.
36. Liu T, He W, Yan, C.Qi, Y. Zhang, Y. Roles of reactive oxygen species and mitochondria in cadmium-induced injury of liver cells. Toxicology and Industrial Health, 2011;27(3):249-256.
37. Zhang C, Yuan X, Mao, Yue W, Kong L, Gao X, Luo Y, Yin Z. Inhibition of cadmium-induced apoptosis by glutathione S-transferase P1 via mitogen-activated protein kinases and mitochondrial pathways. Environmental Toxicology and Pharmacology 2010;30:202-208.

Autor za korespondenciju:
Nina Jančić, +381642744777, e-mail: ninajancic@live.com