

Aleksandra Kasperczyk, Alina Ostałowska, Ewa Grucka-Mamczar, Ewa Birkner

PORÓWNANIE STĘŻENIA KADMU, CYNKU I SELENU WE KRWI I W NASIENIU LUDZKIM

Zakład Biochemii Ogólnej Katedry Biochemii w Zabrzu
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik Zakładu i Katedry: prof. dr hab. n. med. *E. Birkner*

33 pacjentów Poradni Andrologicznej uczestniczyło w badaniu. Oceniano skuteczność bariery krew-jądro dla kadmu, cynku i seleniu oraz badano wpływ tych pierwiastków na parametry nasienia ludzkiego.

Wykazano, że wraz ze wzrostem stężenia kadmu w nasieniu maleje odsetek form prawidłowych plemników. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy badanymi pierwiastkami we krwi i w nasieniu, co może świadczyć o wysokiej selektywności bariery krew-jądro.

Hasła kluczowe: kadm, cynk, selen, morfologia nasienia, bariera krew-jądro.

Key words: cadmium, zinc, selenium, semen parameters, blood-testis barrier.

Gonada męska i zachodzący w niej proces spermatogenezy jest szczególnie wrażliwy na toksyczne czynniki środowiskowe w tym na metale takie, jak: kadm, ołów, nikiel, co skutkuje nasileniem problemu niepłodności męskiej.

Niekorzystny wpływ kadmu na parametry nasienia ma szczególne znaczenie u osób zawodowo narażonych na działanie tego pierwiastka jak również u osób palących papierosy. Stwierdzono, że u palaczy jest większe stężenie kadmu niż u osób niepalących ($0,55 \pm 0,81$ vs $0,42 \pm 0,67$ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$) (1). Palenie papierosów wpływa na gęstość spermy (zwłaszcza jest to zauważalne u wieloletnich palaczy) oraz prowadzi do upośledzenia czynności ruchowej plemników (2), co prawdopodobnie ma związek z inhibicją acetylotransferazy cholinowej i tlenu (3, 4). Wykazano także dodatnią korelację między stężeniem kadmu a liczbą niedojrzałych plemników, co prowadzi do astenospermii oraz defektu środkowej części plemnika (5).

Wśród pierwiastków znoszących niekorzystne działanie metali ciężkich na układ rozrodczy jest selen (6, 7). Jego rola sprowadza się głównie do funkcji ochronnej. Niskie stężenie seleniu może zwiększać podatność plemników na działanie wolnych rodników tlenowych, które z kolei mogą zakłócać biochemiczne procesy zachodzące w akrosomie (8). Stwierdzono, że obniżenie stężenia seleniu powoduje spadek ruchliwości plemników (9), uszkodzenie środkowej części witki plemnika, jak również wzrost ilości postaci nieprawidłowych, głównie z nieprawidłową główką plemnika (10).

W plazmie nasienia, obok pierwiastków śladowych takich, jak magnez, wapń, potas duża jest zawartość cynku, który pochodzi z gruczołu krokowego (11, 12). Cynk odgrywa znaczącą rolę w reprodukcji, przede wszystkim w procesie sper-

matogenezy (13). Jest niezbędny do prawidłowego rozwoju jąder, wpływa korzystnie na ruchliwość plemników (14, 15, 16, 17) na ich prawidłową budowę (18) jak również liczbę (15, 19). Obniżenie stężenia cynku w plazmie nasienia powoduje oligospermie i astenospermie (20, 21).

W celu zapewnienia ochrony przed niekorzystnymi wpływami środowiska zewnętrznego na proces spermatogenezy istotna wydaje się być sprawność bariery krew-jądro. Bariera krew-jądro jest jedną z najbardziej selektywnych barier tkankowych (22, 23). Tworzy ona stałe ściśle określone środowisko, które jest niezbędne dla prawidłowego przebiegu spermatogenezy (24). Od sprawności jej funkcjonowania a zwłaszcza jej elementów komórkowych i niekomórkowych zależy czy toksyczne związki ją przekroczą i uszkodzą komórki rozrodcze. Najbardziej znaczącym elementem tej bariery są komórki *Sertolego* (element komórkowy nabłonka plemnikotwórczego) wraz z występującymi między nimi kompleksami ścisłych połączeń (25), pomiędzy fibroblastami błony własnej kanalika krętego. Natomiast komórki śródbłonka nie stanowią istotnej przeszkody dla przenikania różnych substancji z naczyń włosowatych tkanki śródmiąższowej jądra.

Celem pracy była ocena skuteczności bariery krew-jądro dla analizowanych pierwiastków oraz ich wpływ na parametry nasienia.

MATERIAŁ I METODY

Grupę uczestniczącą w badaniu stanowili pacjenci Poradni Andrologicznej w liczbie 33 mężczyzn. Kryterium podziału na grupy stanowiła zawartość cynku, kadmu i selenu we krwi i w nasieniu. Nasienie pobrano wg ogólnie przyjętych zasad i wykonano pełne badanie morfologiczne. Określono stężenie plemników w nasieniu (mln/cm^3), całkowitą liczbę plemników w nasieniu (mln), % plemników o prawidłowej budowie, % plemników ruchomych po 1 godz., % plemników o ruchu postępowym po 1 godz., % plemników ruchomych po 24 godz., % plemników o ruchu postępowym po 24 godz.

Następnie nasienie odwirowano przy 2000 obr./min. przez 5 min. za pomocą wirówki Centrifuge typ MPW-310, supernatant zamrożono w temp. -75°C do czasu oznaczenia stężenia badanych pierwiastków.

Kadm oznaczano przy dł. fali 228,8 nm wykorzystując metodę spektrofotometrii atomowo-absorbcyjnej na spektrofotometrze PU 9100 X z podajnikiem automatycznym próbek PU 9380 X oraz PU 9170 X. Krzywą kalibracji przygotowano na wzorcach norweskiej firmy Nycomed. Kalibrację przeprowadzano każdorazowo na początku i na końcu serii oznaczeń.

Stężenie selenu oznaczono za pomocą metody bezplomieniowej wykorzystując spektrofotometr firmy Unicam Sollar 939 QZ z korekcją Zeemana, kuwetą grafitową Unicam GF-90 z podajnikiem automatycznym próbek FS-90. Przed oznaczeniem, badaną próbkę w ilości $0,2 \text{ cm}^3$ rozcieńczono $0,8 \text{ cm}^3$ modyfikatora w skład, którego wchodził octan miedzi – $0,5 \text{ g}/\text{dm}^3$ i azotan magnezowy – $1,0 \text{ g}/\text{dm}^3$. Do wykonania krzywej wzorcowej użyto wzorców firmy Nycomed. Do kontroli wewnętrznej użyto certyfikowanych wzorców firmy Nycomed – Se o stęż. $78,0 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ i $11,4 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (13).

Stężenie zawartości cynku oznaczono za pomocą metody płomieniowej wykorzystując spektrofotometr PU 9100X z korekcją deuterową firmy Philips. Przed oznaczeniem 0,2 cm³ badanej próbki rozcieńczono 1,8 cm³ wodą dejonizowaną. Krzywa wzorcowa została wykonana na początku serii oznaczeń na wzorcach wodnych firmy MERCK o stęż.: 100 ppm i 200 ppm. Do kontroli wewnętrznej użyto również wzorców wodnych firmy MERCK o stęż.: 50 ppm, 150 ppm oznaczane co 10 próbek badanych.

Do analizy statystycznej stosowano test U *Mann-Whitney'a*, do obliczenia korelacji – test *Spearmana*.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W tab. I przedstawiono zależność pomiędzy zawartością kadmu we krwi i w plazmie nasienia a morfologią nasienia. Wykazano, że przy wysokim stężeniu kadmu w plazmie nasienia zmniejsza się liczba form prawidłowych plemników ($p=0,008$). Nie wykazano wpływu tego pierwiastka na pozostałe parametry nasienia (tab. I). Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia kadmu w plazmie nasienia maleje liczba form prawidłowych plemników. Kadm w gonadach uszkadza naczynia krwionośne, co może powodować zmiany w przepuszczalności ściany naczyń i w dalszej konsekwencji zaburzenie procesu spermatogenezy, co może przyczyniać się do powstawania uszkodzonych plemników. Kadm również narusza funkcjonowanie bariery krew-jądro, co jest spowodowane interakcją między tym pierwiastkiem a komórkami *Sertoliego* i *Leydiga* wchodzącymi w skład tej bariery

T a b e l a I. Stężenie kadmu we krwi i w plazmie nasienia oraz parametry morfologiczne nasienia w badanych grupach
T a b l e I. Cadmium in blood and seminal plasma and semen characteristics parameters in study groups

	Niskie stężenie Cd we krwi (n = 7)	Wysokie stężenie Cd we krwi (n = 16)	Wartość p	Niskie stężenie Cd w plazmie nasienia (n = 16)	Wysokie stężenie Cd w plazmie nasienia (n = 17)	Wartość p
	średnia ± SD			średnia ± SD		
wiek (lata)	36,6 ± 8,9	39,1 ± 8,3	0,651	36,8 ± 8,1	39,1 ± 9,2	0,504
stężenie kadmu (Cd) we krwi	0,76 ± 0,26	1,82 ± 0,61	< 0,001	1,26 ± 0,55	1,36 ± 0,87	0,986
stężenie kadmu (Cd) w plazmie nasienia (µg/dm ³)	0,344 ± 0,404	0,277 ± 0,202	0,773	0,119 ± 0,075	0,511 ± 0,345	< 0,001
objętość nasienia (cm ³)	2,98 ± 1,25	2,48 ± 1,17	0,165	2,95 ± 1,31	2,49 ± 1,10	0,321
stężenie plemników w nasieniu mln/cm ³	50,0 ± 42,1	62,6 ± 87,4	0,943	35,9 ± 32,5	78,4 ± 88,8	0,072
całkowita ilość plemników w nasieniu (mln)	174 ± 178	152 ± 224	0,885	122 ± 140	206 ± 246	0,207
% plemników o prawidłowej budowie	58% ± 11%	55% ± 8%	0,367	60% ± 8%	52% ± 10%	0,008

Tabela I. (cd.)

Table I. (cont.)

	Niskie stężenie Cd we krwi (n = 7)	Wysokie stężenie Cd we krwi (n = 16)	Wartość p	Niskie stężenie Cd w plazmie nasienia (n = 16)	Wysokie stężenie Cd w plazmie nasienia (n = 17)	Wartość p
	średnia ± SD			średnia ± SD		
% plemników ruchomych po 1 godz.	28% ± 22%	42% ± 18%	0,063	35% ± 21%	36% ± 21%	0,718
% plemników o ruchu postępowym po 1 godz.	10% ± 9%	15% ± 11%	0,206	11% ± 11%	14% ± 9%	0,134
% plemników ruchomych po 24 godz.	3,5% ± 4,7%	5,1% ± 6,3%	0,468	3,4% ± 5,9%	5,2% ± 5,4%	0,233
% plemników o ruchu postępowym po 24 godz.	1,1% ± 1,9%	1,1% ± 2,0%	0,894	0,8% ± 1,7%	1,3% ± 2,2%	0,400

Tabela II. Stężenie cynku w osoczu krwi i w plazmie nasienia oraz parametry morfologiczne nasienia w badanych grupach

Table II. Zinc in blood and seminal plasma and semen characteristics in study groups

	Niskie stężenie Zn w osoczu krwi (n = 17)	Wysokie stężenie Zn w osoczu krwi (n = 16)	Wartość p	Niskie stężenie Zn w plazmie nasienia (n = 16)	Wysokie stężenie Zn w plazmie nasienia (n = 17)	Wartość p
	średnia ± SD			średnia ± SD		
wiek (lata)	39,2 ± 8,4	36,7 ± 8,8	0,504	37,5 ± 9,2	38,3 ± 8,2	0,704
stężenie Zn w osoczu krwi (µg/dl)	102,5 ± 10,4	140,4 ± 18,0	<0,001	118,6 ± 21,7	125,2 ± 26,5	0,449
stężenie Zn w plazmie nasienia (mg/dm ³)	107,9 ± 43,4	121,6 ± 39,6	0,331	81,5 ± 25,8	146,5 ± 25,1	<0,001
objętość nasienia (cm ³)	3,15 ± 1,53	2,32 ± 0,65	0,227	2,81 ± 1,43	2,64 ± 1,02	0,942
stężenie plemników w nasieniu mln/dm ³	49,5 ± 51,8	63,1 ± 82,3	0,614	55,1 ± 50,9	57,8 ± 83,4	0,666
całkowita ilość plemników w nasieniu (mln)	169 ± 180	157 ± 222	0,885	163 ± 163	162 ± 234	0,540
% plemników o prawidłowej budowie	56% ± 11%	57% ± 9%	0,957	55% ± 10%	58% ± 10%	0,417
% plemników ruchomych po 1 godz.	34% ± 15%	37% ± 25%	0,527	39% ± 21%	32% ± 20%	0,416
% plemników o ruchu postępowym po 1 godz.	11% ± 8%	15% ± 12%	0,303	15% ± 11%	11% ± 9%	0,271
% plemników ruchomych po 24 godz.	3,1% ± 4,4%	5,4% ± 6,5%	0,515	5,5% ± 6,8%	3,2% ± 4,1%	0,682
% plemników o ruchu postępowym po 24 godz.	0,9% ± 1,9%	1,2% ± 2,0%	0,564	1,6% ± 2,3%	0,5% ± 1,3%	0,096

Tabela III. Stężenie selenu w osoczu krwi i w plazmie nasienia oraz parametry morfologiczne nasienia w badanych grupach

Table III. Selenium in blood and seminal plasma and semen characteristics in study groups

	Niskie stężenie Se w osoczu krwi (n = 16)	Wysokie stężenie Se w osoczu krwi (n = 17)	Wartość p	Niskie stężenie Se w plazmie nasienia (n = 16)	Wysokie stężenie Se w plazmie nasienia (n = 17)	Wartość p
	średnia ± SD			średnia ± SD		
wiek (lata)	39,2 ± 9,6	36,7 ± 7,6	0,329	36,6 ± 7,5	39,2 ± 9,5	0,303
stężenie Se w osoczu krwi (µg/dm ³)	49,19 ± 12,39	80,41 ± 8,99	< 0,001	60,28 ± 19,43	69,98 ± 18,01	0,140
stężenie Se w plazmie nasienia (µg/dm ³)	27,35 ± 11,62	33,11 ± 15,99	0,264	20,63 ± 6,48	39,43 ± 13,34	< 0,001
objętość nasienia (cm ³)	2,62 ± 1,36	2,82 ± 1,11	0,367	3,11 ± 1,54	2,36 ± 0,69	0,296
stężenie plemników w nasieniu mln/dm ³	52,2 ± 48,2	60,6 ± 84,6	0,801	44,7 ± 30,2	67,6 ± 90,8	0,914
całkowita ilość plemników w nasieniu (mln)	145 ± 156	179 ± 237	0,914	165 ± 170	160 ± 230	0,540
% plemników o prawidłowej budowie	54% ± 8%	59% ± 11%	0,080	55% ± 11%	58% ± 8%	0,448
% plemników ruchomych po 1 godz.	30% ± 23%	40% ± 18%	0,406	32% ± 18%	39% ± 23%	0,386
% plemników o ruchu postępowym po 1 godz.	11% ± 8%	14% ± 12%	0,312	11% ± 8%	15% ± 11%	0,263
% plemników ruchomych po 24 godz.	3,8% ± 5,5%	4,7% ± 5,8%	0,392	2,5% ± 3,6%	6,0% ± 6,6%	0,174
% plemników o ruchu postępowym po 24 godz.	1,1% ± 2,1%	1,0% ± 1,8%	0,894	0,6% ± 1,5%	1,5% ± 2,2%	0,387

(26). Uszkodzenie tej bariery również niekorzystnie wpływa na proces spermatogenezy, narusza, bowiem homeostazę dla przebiegu tego procesu.

Nie wykazano istotnie statystycznie zmian pomiędzy stężeniem cynku i selenu w osoczu krwi i w plazmie nasienia a morfologią nasienia (tab. II i III), aczkolwiek te dwa pierwiastki działają prewencyjnie w zatruciach kadmem i działają ochronnie na nasienie. Selen jest pobierany przez erytrocyty, następnie jest z nich uwalniany i wiązany z białkami osocza. W takiej postaci selen jest transportowany we krwi i posiada wysokie powinowactwo do kadmu, z którym wiąże się w stosunku 1:1 (27). Wykazano również, że cynk i selen pozytywnie korelują ze sobą w plazmie nasienia (28, 29). Prawdopodobnie ma to związek z tym, że te dwa pierwiastki odgrywają znaczącą rolę w reprodukcji jak również pełnią rolę ochronną przed działaniem toksycznych metali takich jak np. kobalt i kadm (30).

W tab. IV przedstawiono korelacje analizowanych pierwiastków we krwi i w nasieniu – nie wykazano istotnie statystycznie różnic, co potwierdza wysoką skuteczność bariery krew-jądro w przenikaniu pierwiastków z krwi do nasienia.

Tabela IV. Korelacje pomiędzy badanymi pierwiastkami w plazmie nasienia a krwią

Table IV. Correlations between study elements in seminal plasma and blood

Korelacja pomiędzy:	Współczynnik korelacji <i>R Spearmana</i>	Poziom p
stężeniem kadmu w plazmie nasienia i we krwi	-0,08	0,647
stężeniem cynku w plazmie nasienia i w osoczu krwi	0,08	0,675
stężeniem selenu w plazmie nasienia i w osoczu krwi	0,24	0,178

WNIOSKI

Wraz ze wzrostem stężenia kadmu we krwi maleje ilość form prawidłowych plemników.

Nie wykazano różnic pomiędzy stężeniem badanych pierwiastków we krwi i plazmie nasienia.

A. Kasperczyk, A. Ostałowska, E. Grucka-Mamczar, E. Birkner

A COMPARISON OF CADMIUM, ZINC AND SELENIUM CONCENTRATIONS IN HUMAN BLOOD AND SEMINAL PLASMA

Summary

The participants included 33 patients of the Andrology Clinic. The concentration of zinc, cadmium or selenium in blood and seminal plasma was used as the criterion for assigning patients to the individual groups. Complete sperm morphology was evaluated in all patients. Atomic absorption spectrometry was used to determine cadmium concentration in blood serum and seminal plasma, while zinc and selenium in blood serum and seminal plasma were determined by the flame method. The aim of this study was to assess the effectiveness of the blood-testis barrier for cadmium, zinc and selenium, and the effect of those elements on semen morphology. It was found that increasing semen cadmium concentration resulted in reduced proportion of normal sperm cells found in the semen. No correlation was found between the study elements in blood and semen, which may point to a high effectiveness of the blood-testis barrier.

PIŚMIENNICTWO

1. Keck C., Bramkamp G., Behre H.M.: Lack of correlation between cadmium in seminal plasma and fertility status of nonexposed individuals and two cadmium-exposed patients, *Reprod Toxicol.*, 1995; 9: 35-40. – 2. Chia S.E., Xu B., Ong C.N.: Effect of cadmium and cigarette smoking on human semen quality. *Int. J. Fertil Menopausal Stud.*, 1994; 39: 292-298. – 3. Dwivedi J.: Inhibition of choline acetyltransferase and carnitine acetyltransferase by cadmium and mercury. *Contam Toxicol.*, 1983; 12: 151-156. – 4. Alabi N.S., Wagner P.D.: Interactive effect of organic and inorganic selenium with cadmium and mercury on spermatozoal oxygen consumption and motility *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 1985; 33: 911-919. – 5. Chia S.E., Ong C.N., Lee S.T., et al.: Blood concentrations of lead, cadmium, mercury, zinc, and copper and human semen parameters. *Arch.-Androl.*, 1992; 29: 177-183. – 6. Aitken R.J.: A free radical theory of male infertility. *Reprod Fertil*, 1994; 6: 19-24. – 7. Sugawara N., Hirohata Y., Sugawara C.: Testicular dysfunction induced by cadmium and its improvement caused by selenium in the mouse. *J. Environ. Pathol. Toxicol., Oncol*, 1989; 9: 53-64. – 8. Alabi N.S., Beilstein M.A., Whanger P.D.: Chemical forms of selenium present in rat and ram spermatozoa, *Biol Trace Elem. Res*, 2000; 76: 161-173. – 9. Hawkes W.C., Turek P.J.: Effects of dietary selenium on sperm motility in healthy men.

J. Androl., 2001; 22: 764-772. – 10. *Waatanabe T., Endo A.*: Effect of selenium deficiency on sperm morphology and spermatocyte chromosomes in mice. *Mutat Res.*, 1991; 262: 93-99.

11. *Semczuk M., Kurpisz M.*: Andrologia, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1998; 172-197. – 12. *Carreras A., Mendoza C.*: Zinc levels in seminal plasma of fertile and infertile men. *Andrologia*, 1990; 22: 279-283. – 13. *Tikkiwal M., Ajmera R.L., Mathur N.K.*: Effect of zinc administration on seminal zinc and fertility of oligospermic males. *Indian. J. Physiol. Pharmacol.*, 1987; 3: 30-34. – 14. *Anderson M.B., Lepak K., Farinas V., George W.J.*: Protective action of zinc against cobalt-induced testicular damage in the mouse. *Reprod. Toxicol.*, 1993; 7: 49-54. – 15. *Chia S.E., Ong C.N., Chua L.H., Ho L.M., Tay S.K.*: Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J. Androl.*, 2000; 21: 53-57. – 16. *Henkel R., Bittner J., Weber R., Huther F., Miska W.*: Relevance of zinc in human sperm flagella and its relation to motility. *Fertil Steril*, 1999; 71: 1138-1143. – 17. *Sorensen M.B., Stoltenberg M., Danscher G., Ernst E.*: Chelation of intracellular zinc ions affects human sperm cell motility. *Mol. Hum. Reprod.*, 1999; 5: 338-341. – 18. *Wong W.Y., Merkus H.M., Thomas C.M., Menkveld R., Zielhuis G.A., Steegers Theunissen R.P.*: Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*, 2002; 77: 491-498. – 19. *Wong W.Y., Flik G., Groenen P.M., Swinkels D.W., Thomas C.M., Copius Peereboom J.H., Merkus H.M., Steegers Theunissen R.P.*: The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reprod Toxicol.*, 2001; 15: 131-136. – 20. *Agrawal A., Ikemoto I., Loughlin K.R.*: Effect of sperm washing on levels of reactive oxygen species in semen. *Arch. Androl.*, 1994; 33: 157-162.

21. *Tikkiwal M., Ajmera R.L., Mathur N.K.*: Effect of zinc administration on seminal zinc and fertility of oligospermic males. *Indian. J. Physiol. Pharmacol.*, 1987; 3: 30-34. – 22. *Cavicchia J.C., Sacerdote F.L.*: Correlation between blood-testis barrier development and onset of the first spermatogenic wave in normal and in busulfan-treated rats: a lanthanum and freeze-fracture study. *Anat. Rec.*, 1991; 230: 361. – 23. *Weber J.E.*: Effect of cytochalasin D on the integrity of the Sertoli cell (blood-testis) barrier. *Am. J. Anat.*, 1988; 182: 130. – 24. *Waites G.M., Gladwell R.T.*: Physiological significance of fluid secretion in the testis and blood-testis barrier. *Physiol. Rev.*, 1982; 62: 624-671. – 25. *Cavicchia J.C., Sacerdote F.L.*: Correlation between blood-testis barrier development and onset of the first spermatogenic wave in normal and in busulfan-treated rats: a lanthanum and freeze-fracture study. *Anat. Rec.*, 1991; 230: 361. – 26. *Telisman S., Jurasovic J., Pizent A., Cvitkovic P.*: Cadmium in the blood and seminal fluid of nonoccupationally exposed adult male subjects with regard to smoking habits. *Int. Arch. Occup Environ Health*, 1997; 70: 243-8. – 27. *Gaździk T., Kamiński M.*: Funkcja i struktura gonad męskich w zatruciu kadmem. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1983; 37: 215-230. – 28. *Kasperczyk A., Kasperczyk S., Dziwisz M., Birkner E., Zalejska-Fiolka J., Walecko C., Winiarska H., Birkner J.*: Wpływ zawartości cynku i selenu na jakość nasienia ludzkiego. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2001; 34: 233-7. – 29. *Bo Xu, Sin-End Chia, Maureen Tsakok, Choon-Nam Ong*: Trace elements in blood and seminal plasma and their relationship to sperm quality. *Reprod Toxicol.*, 1993; 7: 613-8. – 30. *Zawiarta J., Wieczorek P., Machaliński B.*: Selen pierwiastek niezbędny i toksyczny. *Biul. Magnezol.*, 1997; 2: 130-8.

Adres: 41-808 Zabrze, ul. Jordana 19.