



INFLUENCE OF LIFETIME EXPOSURE OF SUBLETHAL DOSES OF CADMIUM TO SELECTED PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM

Agnesa Lukačínová, Jaroslava Nováková, Eva Lovásová, Iveta Cimboláková, František Ništiar

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effects of exposure to low doses of cadmium dissolved in drinking water (at a concentration 200 times higher than the maximum permissible dose) on selected parameters of carbohydrate metabolism in 20 Wistar rats. Animals were divided into two groups – control and experimental groups exposed to low doses of cadmium chloride in concentration 20 μM of drinking water. We studied the biochemical parameters, as glucose, hemoglobin, glycated hemoglobin, lactate dehydrogenase and amylase in blood of rats. Glucose, hemoglobin, glycated hemoglobin and amylase levels increased, lactate dehydrogenase was not changed of rats exposed to cadmium. Good indicators of chronic intoxication by cadmium are elevated levels of glucose, hemoglobin and mainly glycated hemoglobin in blood. The evaluation results should be taken into account not only the data at the end of the experiment but for the entire duration of trials (i.e., more time steps), which results largely make objective.

Keywords: cadmium, haemoglobin, glucose, amylase, lactate dehydrogenase

ÚVOD

Ťažké kovy sú bežné kontaminanty životného prostredia následkom priemyselnej a poľnohospodárskej výroby (Tipping et al., 2006), ktoré nepodliehajú biologickej degradácii a ich hladiny v jednotlivých zložkách prostredia (ovzdušie, voda a potraviny) postupne stúpajú (Li et al., 2010). Bežná populácia je kontaminovaná najmä potravinovým reťazcom (CDC, 2009).

Ťažké kovy môžu vyvolať širokú škálu toxicko-biochemických účinkov, pôsobiť nepriaznivo na mnohé orgány a systémy u ľudí a zvierat (Massányi et al., 2007; Holovská et al., 2009). Určité ťažké kovy ako zinok, meď a mangán sú potrebné pre fyziologické procesy, oproti tomu iné toxické ťažké kovy ako napr. kadmium sú polutanty prostredia (ATSDR, 2008) a môžu nepriaznivo pôsobiť na zdravie ľudí (Liu, Qu, Kadilská, 2009). Najnovšie štúdiá poukazujú na to, že tvorba reaktívnych foriem kyslíka (RFK) predstavuje základný patogenetický článok kovmi indukovanej karcinogenézy (Valko et al., 2006), so špeciálnym zreteľom na úlohu v aktivácii signálno-transdukčných dráh, epigenetických zmien a reparačných procesoch DNA (Salnikov & Zhitkovich, 2008). Základný patogenetický mechanizmus toxicity ťažkých kovov spočíva v oxidatívnom strese postihnutých orgánov, následkom tvorby RFK a lipidovej peroxidácie, ktoré poškodzujú rôzne zložky buniek vrátane proteínov, membránových lipidov a nukleových kyselín (Martiniaková et al., 2010). Rastúce znečisťovanie prostredia toxickými ťažkými kovmi má za následok rôzne ochorenia, vrátane nádorov, hematotoxicity, alergických ochorení a imunotoxicity (Lukáč et al., 2009).

Cieľom tejto práce bolo sledovať priemernú dobu života, prežívanie, vývoj telesnej hmotnosti a vybrané parametre sacharidového metabolizmu po celoživotnej expozícii nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode u potkanov.

MATERIÁL A METÓDY

Zvieratá, podmienky chovu a experimentálny protokol: Do pokusu sme zaradili 20 samcov potkana Wistar, vo veku 52 dní, priemernej hmotnosti 128 ± 11 g získaných z SPF chovu Centrálného zvieratníka UPJŠ LF (CZ UPJŠ LF) v Košiciach, ktoré boli zaradené náhodne do dvoch skupín, kontrolnej a kadmium exponovanej pokusnej skupiny. Potkany boli chované individuálne v celosklených metabolických klietkach s voľným prístupom k pitnej vode a potrave od 52. dňa veku (0. deň pokusu). Kontrolná skupina (C, $n = 10$) dostávala čistú pitnú vodu. Pokusná skupina (Cd, $n = 10$) dostávala pitnú vodu obsahujúcu chlorid kadmiový v koncentrácii $20 \mu\text{mol.l}^{-1}$, t.j. 2.0 mg Pb.l^{-1} pitnej vody čo predstavuje 200-násobok MPK (maximálne prípustná koncentrácia) vo vode.

Obe skupiny boli kŕmené štandardnou krmivom *ad libitum*. Zvieratá boli chované pri konštantnej teplote 22 ± 2 °C, relatívnej vlhkosti 50%, a pri svetelnom režime 12 h svetlo:12 h tma. Pokusy boli vykonané v CZ UPJŠ LF, ktoré má akreditáciu na chov a pokusy na zvieratách. Pokusy boli povolené Etickou komisiou UPJŠ LF a Štátnou veterinárnou potravinovou správou SR (č. Ro-7879/04-220/3).

V 26 týždňových intervaloch pokusu sme sledovali prežívanie, priemernú dobu života, hmotnosť, príjem potravy a vody, stanovili sme hladiny glukózy,

glykovaného hemoglobínu, hemoglobínu, amylázy a laktátdehydrogenázy v krvnej plazme. Krv sme odoberali vždy ráno medzi 07⁰⁰ a 09⁰⁰.

Biochemické analýzy: Krv sme odoberali z chvostovej vény (500 µl) do antikoagulačnej zmesi lítium heparinátu, odstredili pri 1 000 g počas 45 min pri 4 °C a stiahnutá plazma bola uložená do vyšetrenia pri -24 °C. Ak boli známky hemolýzy plazma nebola použitá na vyšetrenie. Vyšetrovali sme: glukózu, glykovaný hemoglobín, hemoglobín, amylázu (AMS, E.C.3.2.1.1.) a laktátdehydrogenázu (LDH, E.C.1.1.1.27) použitím komerčných testov firmy Dot Diagnostics a.s., Česká republika.

Štatistické analýzy: Údaje boli analyzované ako priemery Studentovým *t*-testom a Mann–Whitney U-testom alebo jednocestnou ANOVA s následným Newman-Keuls *post-hoc* testom. Pre korelačné analýzy sme použili Spearmanov test. Významnosť bola určená na hladine <0,05 pre všetky štatistické hodnotenia. Hodnoty sme vyjadrili ako priemer ±S.E.

VÝSLEDKY

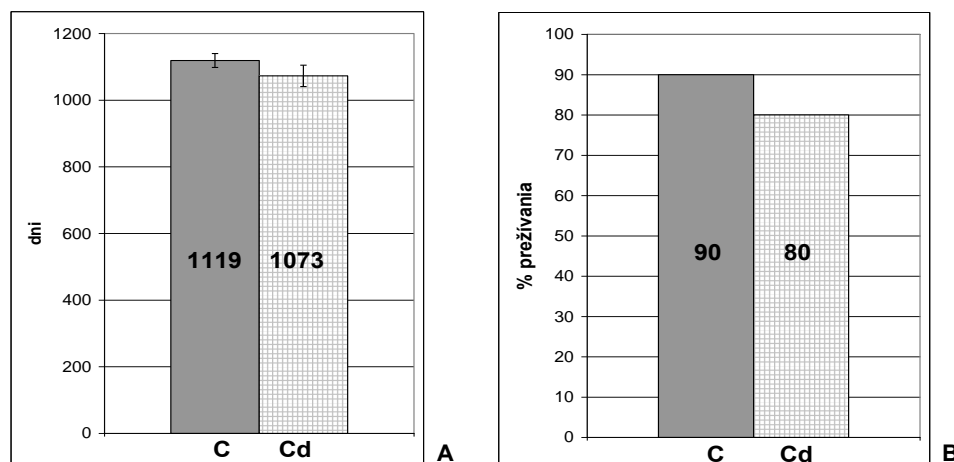
Priemerná doba života a prežívanie: Porovnanie priemernej doby života v 156. týždni pokusu pre jednotlivé skupiny uvádzame na obr. 1A. Medzi kontrolnou a kadmiovou exponovanou skupinou neboli zistené významné rozdiely. Prežívanie potkanov prezentujeme na obr. 1B.

Prežívanie u kadmiov exponovaných potkanov bolo nižšie o 10 % oproti kontrolnej skupine. Medzi hlavné príčiny mortality patrili krvácanie do gastrointestinálneho traktu a nádory.

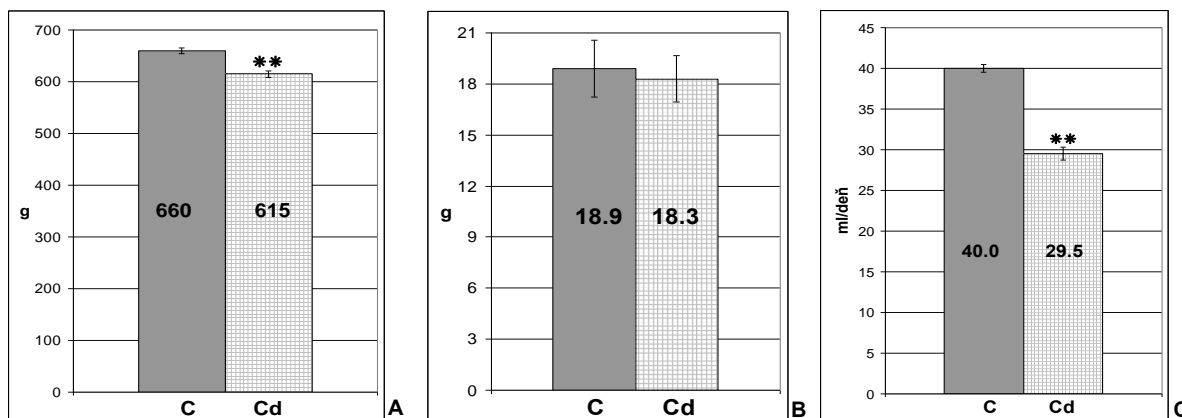
Telesná hmotnosť, príjem potravy a vody: Telesná hmotnosť (obr. 2A) bola významne nižšia u kadmiov exponovaných potkanov ($p < 0,001$). Príjem potravy nebol významne odlišný medzi vyšetrovanými skupinami (obr. 2B), aj keď po expozícii kadmiov bol mierne nižší. Príjem vody bol štatisticky významne nižší ($p < 0,001$) v skupine exponovanej kadmiov (obr. 2C). Znížený príjem vody u potkanov exponovaných kadmiov je možné pripísať chuťovému fenoménu.

Účinok na metabolizmus sacharidov: Porovnanie hladín glukózy v krvi (glykémie) medzi kontrolnými a kadmiov exponovanými potkanmi uvádzame na obr. 3A a tab. 1. Po expozícii kadmiov boli zistené významne vyššie hladiny glukózy v krvi exponovaných potkanov oproti kontrolnej skupine ($p < 0,05$). Po expozícii kadmiov bol zistený významný vzostup ($p < 0,001$) hemoglobínu (obr. 3B, tab. 1). Glykovaný hemoglobín (gHb, obr. 3C, tab. 1) po expozícii kadmiov vysoko významne stúpol v porovnaní s kontrolnými zvieratami ($p < 0,01$).

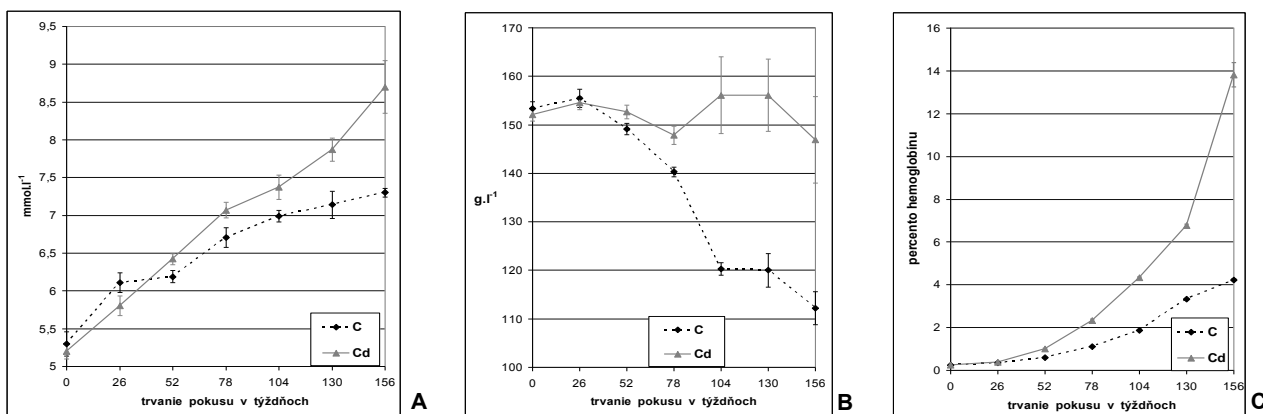
Hladiny amylázy (obr. 4A, tab. 1) boli po expozícii olovom štatisticky významne zvýšené ($P < 0,05$). Aktivity laktátdehydrogenázy (obr. 4B, tab. 1) v krvi potkanov boli štatisticky nevýznamne zvýšené po expozícii olovom.



Obr. 1 – Priemerná doba života (A) and % prežívania (B) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.E.).



Obr. 2 – Telesná hmotnosť (A), príjem potravy (B) a vody (C) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.E.). (***) = $p < 0,001$ medzi kontrolnou a pokusnou skupinou

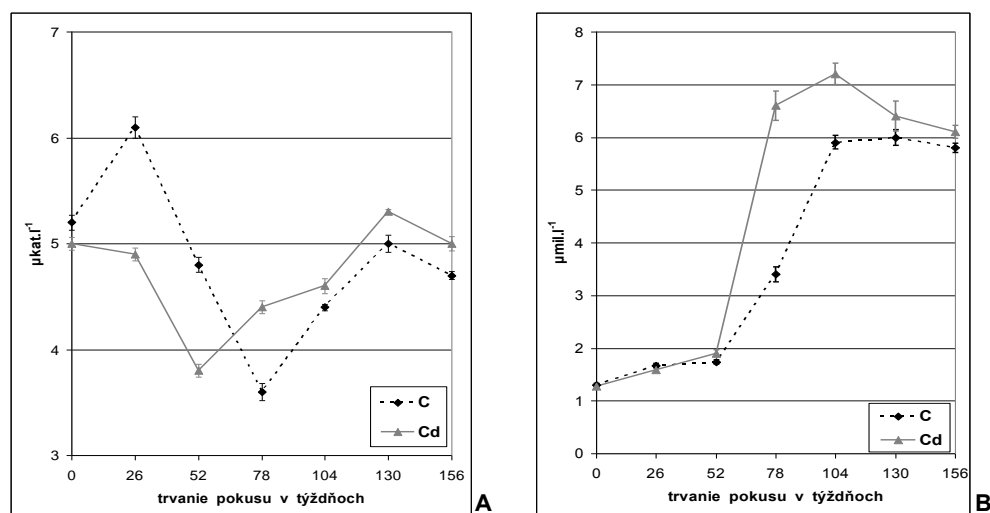


Obr. 3 – Zmeny hladín glukózy (A), hemoglobínu (B) a glykovaného hemoglobínu (C) v krvi potkanov počas pokusu (priemer \pm S.E.).

Tabuľka 1 Porovnanie vybraných parametrov metabolizmu sacharidov medzi kontrolnými a kadmom exponovanými potkanmi

Parameter	Glukóza		Hb		gHb		AMS		LDH	
	C	Cd	C	Cd	C	Cd	C	Cd	C	Cd
Priemer	7,3	8,7	112,2	146,9	4,23	13,8	4,7	5	5,8	6,1
S.D.	0,18	0,93	10,3	25,2	0,11	1,62	0,11	0,19	0,27	0,35
S.E.	0,06	0,31	3,45	8,91	0,04	0,57	0,04	0,07	0,09	0,12
GP	7,3	8,65	111,8	145,1	4,23	13,7	4,7	5	5,79	6,09
Maxim um	7,5	10,5	125	190	4,35	16,4	4,9	5,4	6,4	6,9
HKV	7,43	8,9	122,5	172,5	4,33	15,1	4,8	5,1	5,9	6,18
Medián	7,35	8,7	110	137,5	4,25	13,8	4,7	4,95	5,8	6
DKV	7,1	8,55	105	130	4,18	12,4	4,6	4,86	5,6	5,9
Minim um	7	6,8	95	120	4	11,5	4,55	4,8	5,5	5,8
Rozsah	0,5	3,7	30	70	0,35	4,9	0,35	0,6	0,9	1,1
VK	0,02	0,11	0,09	0,17	0,03	0,12	0,02	0,04	0,05	0,06
P hodnota	0,003		<0,001		<0,001		0,001		0,063	

Hb = hemoglobín; gHb = glykovaný hemoglobín; AMS = amyláza; LDH = laktátdehydrogenáza; GP = geometrický priemer; HKV = horný kvartil; DKV = dolný kvartil; VC = variačný koeficient;



Obr. 4 – Zmeny aktivít amylázy (A) a laktátdehydrogenázy (B) v krvi potkanov

DISKUSIA

Kadmium pôsobí toxicky takmer na všetky orgánové systémy, aj keď najcitlivejšími sú pečeň, obličky, reprodukčný, nervový a kardiovaskulárny systém. V dostupnej literatúre je pomerne málo údajov o vplyve chronickej expozície kadmium na metabolizmus sacharidov a tieto sú často protikladné a väčšina údajov pochádza zo štúdií na rybách (Cicik & Engin, 2005). Je známe, že expozícia kadmium má hyperglykemizujúci účinok a zvyšuje intoleranciu na glukózu (Shepeľova, Dekach, Mel'nikova, 2007). Prejav toxicity kadmia sú dobre popísané, ale podrobnosti o jeho patogenetickom účinku na metabolizmus sacharidov pri dlhodobej expozícii nízkymi dávkami nie sú úplne objasnené.

Na základe štúdií LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*) bola táto hladina stanovená na 7,0 mg Cd.kg⁻¹ na deň. V našich pokusoch táto hladina nebola prekročená. MRL (*Minimal Risk Level*) pre chronickú orálnu expozíciu kadmium bola určená na 0,1 µg.kg⁻¹ na deň. Táto hodnota bola v našich pokusoch prekročená 1 000 násobne.

Nižší účinok kadmia na dĺžku života v porovnaní s ostatnými ťažkými kovmi (Lukačínová et al., 2011) je možné pripísať skutočnosti, že kadmium v nízkych dávkach môže byť esenciálny prvok (Schwarz, 1977). O možnej esenciálnej úlohe kadmia pojednáva aj súborný článok (Anke a spol., 2005), a potvrdzujú to aj naše štúdie (Lukačínová et al., 2008). Druhým možným vysvetlením nízkeho účinku kadmia na dĺžku života môže byť, že počas celého života prijali len 64% jednorazovej LD₅₀. Jednorazová LD₅₀ pre kadmium je 225 mg.kg⁻¹ ž.hm. (Kotsonis & Klaasen, 1977).

Normálne hladiny glukózy u samcov potkana Wistar sú v rozmedzí od 5,3 – 8,3 mmol.l⁻¹ a vekom stúpajú od dolnej až po hornú hranicu tohto rozpätia (Lukačínová et al., 2011). Hladina glukózy v krvi je signálom pre príjem potravy a zároveň dôležitým parametrom homeostázy a metabolizmu sacharidov.

Zaujímavý bol vývoj hladín glukózy počas pokusu, kde u kontrolných potkanov postupne stúpala glykémia až do konca pokusu (obr. 3A), aj keď dynamika bola aj u exponovaných potkanov rovnaká, hladiny glykémie boli od 52. týždňa vyššie ako u kontrolných potkanov. Pri porovnaní za celú dobu trvania pokusu sú rozdiely v glykémii medzi kontrolnou a kadmium exponovanou skupinou tiež štatisticky významné už od 78. týždňa ($p < 0,05$), preto zvýšenie hladín glukózy v krvi je vhodným doplnkovým markerom pre chronickú expozíciu kadmium. Na uspokojivé zodpovedanie otázky, prečo sú po expozícii kadmium napriek nižšiemu príjmu potravy vyššie glykémie budú potrebné ďalšie štúdiá.

Naše výsledky sú v zhode s údajmi z literatúry, kde po intoxikácii s kadmium bol zistený vzostup glukózy v krvi asi o 20% (El-Demerdash et al., 2004). Vysvetľujú to poškodením molekuly inzulínu.

Hemoglobín je uvoľňovaný do plazmy z erytrocytov. Normálne hodnoty hemoglobínu u potkanov sa pohybujú v rozmedzí 115 – 160 g.l⁻¹ (Miller, Friedman, Deuei, 1946). V literatúre popisali pokles hemoglobínu po subchronickej intoxikácii kadmium o 25 % (El-Demerdash et al., 2004). V našich pokusoch sme pokles hemoglobínu nezistili, pravdepodobne preto, že sme použili podstatne nižšie dávky kadmia.

Z našich výsledkov vyplýva, že hemoglobín je vyšší po expozícii kadmium. Vyššie hladiny hemoglobínu sa zdajú byť vhodným doplnkovým chronickej expozície nízkymi dávkami kadmia. Hladiny hemoglobínu počas pokusu vekom klesali (obr. 3B) v kontrolnej skupine, zatiaľ čo v skupine exponovanej olovom sa počas celého pokusu držali na približne rovnakej hladine.

Hladiny glykovaného hemoglobínu (HbA1c) záviseli od hladín glukózy v krvi (obr. 3C). Jeho hladiny vekom stúpali a v kadmium exponovanej skupine bol štatisticky vysoko významný vzostup hladín glykovaného hemoglobínu ($p < 0,001$).

V dostupnej literatúre sme nenašli relevantné údaje o vplyve chronickej expozície kadmium na hladiny glykovaného hemoglobínu.

O účinku ťažkých kovov na aktivitu amylázy je v literatúre len málo údajov (Kalahasthi et al., 2006). Naše výsledky ohľadom významného zvýšenia aktivít amylázy po expozícii kadmium potvrdzujú údaje iných autorov (Kalahasthi et al., 2006), ale boli publikované aj opačné údaje (Linari, Nencini, Nucero, 2001). Zmeny aktivity amylázy svedčia o poškodení exokrinného pankreasu po dlhodobej expozícii kadmium.

Za referenčné hodnoty AMS u samcov potkanov kmeňa Wistar považujeme hodnoty 4,0 – 5,9 µkat.l⁻¹ (Lukačínová et al., 2011). Vývoj hladín amylázy počas pokusu (obr. 4A) vykazoval zaujímavý priebeh, v prvých 26. týždňoch stúpala, potom klesala do 78. týždňa a stúpala zase do 130. týždňa, potom už klesala až do konca pokusu. Tento trend vývoja bol rovnaký v oboch skupinách, ale hladiny AMS boli u kadmium exponovaných potkanov podstatne vyššie ($p < 0,05$) od 78. týždňa a dá sa predpokladať, že to bolo následkom poškodenia obličiek a čriev, snáď aj rozvoja malígnych procesov. Zvýšenie hladiny amylázy nebude vhodným markerom chronickej intoxikácie kadmium, nakoľko v prvej perióde pokusu sú oproti kontrole nižšie (do 52. týždňa) potom zase vyššie. Práve prípad amylázy dokazuje dôležitosť hodnotenia za celé obdobie pokusu (viac časových etáp), ako len na základe údajov z konca pokusu. Pri hodnotení výsledkov za celé obdobie trvania pokusu je rozdiel medzi hodnotenými skupinami štatisticky nevýznamný.

U potkanov sú normálne hodnoty LDH v rozmedzí 1,7 až 6,2 µkat.l⁻¹ (Preus et al., 1988). LDH vykazuje stúpajúci trend do 104. týždňa v oboch skupinách (obr. 4B). V oboch skupinách potom klesá od 104. týždňa. Zvýšenie hladín LDH nebude vhodným doplnkovým markerom chronickej intoxikácie kadmium.

Aby sme mohli naše výsledky interpretovať s náležitou zodpovednosťou, bude potrebné pokračovať ďalej v štúdiu a doplniť ju o sledovanie ďalších biochemických, imunologických a genetických parametrov.

ZÁVER

Získané výsledky rozširujú naše poznatky o celoživotnej expozícii nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode u potkanov. Výsledky je potrebné hodnotiť počas viacerých časových etáp počas expozície, nielen na základe údajov na začiatku a na konci pokusu.

LITERATÚRA

- ANKE, M., DORN, W., MÜLLER, M., SEIFERT, M. 2005. Recent progress in exploring the essentiality of the ultratrace element cadmium to the nutrition of animals and man. In *Biomed Res. Trace Elem.*, vol. 16, 2005, p. 198-202.
- ATSDR, 2008. *Toxicological Profile for Cadmium*. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 454 p.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. p. 176-242
- CICIK, B., ENGIN, K. 2005. The effects of cadmium on levels of glucose in serum and glycogen reserves in the liver and muscle tissues of *Cyprinus carpio* (L., 1758). In *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, vol. 29, 2005, p. 113-117.
- EL-DEMERDASH, F. M., YOUSEF, M. I., KEDWANY, F. S., BAGHDADI, H. H. 2004. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and β -carotene. In *Food Chem. Toxicol.*, vol. 42, 2004, p. 1563-1571.
- HOLOVSKA, K., CIGANKOVA, V., ALMASIOVA, V., SOBEKOVA, A., NAD, P., SKALICKA, M. 2009. Ultrastructural and biochemical changes in the turkey liver after the chronic cadmium exposure. In *Acta Vet. Brno*, vol. 59, 2009, p. 167-175.
- KALAHASTHI, R. B., RAO, R. H. R., MURTHY, R. B. K., KUMAR, M. K., 2006. Effect of cadmium exposure on serum amylase activity in cadmium electroplating workers. In *Environ. Bioindicators*, vol. 1, 2006, p. 260-267.
- KOTSONIS, F. N., KLAASEN, C. D. 1977. Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.* vol. 41, 1977, p. 667-680.
- LI, Q., CAI, S., MO, C., CHU, B., PENG, L., YANG, F. 2010. Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil. In *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 73, 2010, p.84-88.
- LINARI, G., NENCINI, P., NUCERITO, V. 2001. Cadmium inhibited stimulated amylase secretion from isolated pancreatic lobules of the guinea-pig. In *Pharmacol Res.*, vol. 43, 2001, p. 219-223.
- LIU, J., QU, W., KADILSKA, M. B. 2009. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. In *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 238, 2009, p. 209-214.
- LUKÁČ, N., MASSÁNYI, P., CAPČÁROVÁ, M., KOVÁČIK, J., MARTINIAKOVÁ, M. 2009. Effect of toxic metals to the immune system. In *Potravinárstvo*, vol. 3, 2009, p. 35-38.
- LUKAČINOVÁ, A., BEŇAČKA, R., LOVÁSOVÁ, E., RÁČZ, O., NIŠTIAR, F. 2008. Reproduction parameters in low dose chronic exposure with heavy metals in rats. In *Polish J. Environ. Stud.*, vol. 17, 2008, p. 911-915.
- LUKAČINOVÁ, A., NOVÁKOVÁ, J., SEDLÁKOVÁ, E., LOVÁSOVÁ, E., DOMBROVSKÝ, P., NIŠTIAR, F. 2011. Referenčné hodnoty u samcov potkana Wistar. 2. Vybrané parametre metabolizmu sacharidov. In: „Výživa a zdravie 2011“. Zborník vedeckých prác. SPU v Nitre, 2011, p. 324-331. ISBN 978-80-552-0699-8.
- LUKAČINOVÁ, A., RÁČZ, O., LOVÁSOVÁ, E., NIŠTIAR, F. 2011. Effect of lifetime low dose exposure to heavy metals on selected serum proteins of Wistar rats during three subsequent generations. In *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 74, 2011, p. 1747-1755.
- MARTINIAKOVÁ, M., OMEĽKA, R., MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N. 2010. The effect of abiotic factors on the immune system. In: Proceeding Book of X. International Scientific Conference “Risk Factors of Food Chain” 2010, SUA in Nitra, Slovak Republic, 2010, p. 241-245, ISBN 978-80-552-0436-9.
- MASSÁNYI, P., LUKÁČ, N., UHRÍN, V., TOMAN, R., PIVKO, J., RAFAY, J., FORGÁCS, Z. S., SOMOSY, Z. 2007. Female reproductive toxicology of cadmium. In *Acta Biol. Hung.*, vol. 58, 2007, p. 287-299.
- MILLER, Z. B., FRIEDMAN, M., DEUEI, H. J. jr. 1946. The influence of caloric restriction on plasma protein, hemoglobin and hematocrit values in the rat. In *Am. J. Physiol.*, vol. 147, 1946, p. 423-427.
- PREUS, M., BHARGAVA, A. S., KHATER, A. E., GUNZEL, P. 1988: Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. In *Toxicol. Lett.*, vol. 42, 1988, p. 225-233.
- SALNIKOV, K., ZHITKOVICH, A. 2008. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. In *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 21, 2008, p. 28-44.
- SCHWARZ, K. 1977. Essentiality versus toxicity of metals. In *Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals*. Amsterdam, Elsevier, 1977, p. 3-22.
- SHEPEĽOVA, I. A. DEKACH, I. E. A. MELNYKOVA, N. M. 2007. Effect of cadmium sulphate on the metabolism of carbohydrate in organism of rats of different ages. In *Ukr. Biokhim. Zh.*, vol. 79, 2007, no. 3, p. 92-96.
- TIPPING, E., LAWLOR, A. J., LOFTS, S., SHOTBOLT, L. 2006. Simulating the long-term chemistry of an upland UK catchment: heavy metals. In *Environ. Pollut.*, vol. 141, 2006, p. 139-150.
- VALKO, M., RHODES, C. J., MONCOL, J., IZAKOVIC, M., MAZUR, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. In *Chem-Biol. Inter.*, vol. 160, 2006, p. 1-40.

Acknowledgments:

This work was supported by the Ministry of Education grants VEGA No. 01/8235/01 and 01/0387/10

Contact address:

MVDr. Agnesa Lukačínová, PhD. Department of Medicinal Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: agnesa.lukacinova@upjs.sk

MVDr. Jaroslava Nováková, PhD., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: jaroslava.novakova@upjs.sk

MVDr. Eva Lovásová, PhD., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: eva.lovasova@upjs.sk

Ing. Iveta Cimboláková, Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: iveta.cimbolakova@upjs.sk

prof. MVDr. František Ništiar, CSc., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Univerzity of P. J. Šafárik, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia, E-mail: frantisek.nistiar@upjs.sk