

## ÚČINOK CELOŽIVOTNEJ EXPOZÍCIE NÍZKÝMI DÁVKAMI KADMIA U POTKANOV NA VYBRANÉ SÉROVÉ PROTEÍNY POČAS TROCH GENERÁCIÍ

EFFECT OF LIFETIME EXPOSURE TO LOW-DOSE OF CADMIUM IN RATS ON  
SELECTED SERUM PROTEINS DURING THREE GENERATIONS

Nováková, J., Cimboláková, I., Sedláková, E., Dombrovský, P.

*Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, P.J. Šafárik University, Košice,  
Slovak Republic*

### 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-fold of maximum permissible limit) on selected biochemical parameters of 60 Wistar rats during three subsequent generations. Animals were divided into two groups – control and experimental group exposed to low dose of cadmium (at a concentration of 20  $\mu\text{mol/l}$  of tap water). Biochemical parameters such as total protein, albumin, transferrin and ferritin in the serum were evaluated. Total protein content increased after exposure to cadmium ( $P < 0.001$ ) in P and F1 generations, while albumin decreased after exposure to cadmium in P generation and increased in F2 generation ( $P < 0.001$ ). Transferrin and ferritin increased after exposure to lead ( $P < 0.001$ ) in comparison to control. Statistically significant increase in filial generations compared to parental generation was observed only after exposure to cadmium in F1 and F2 generations ( $P < 0.05$ ). Increase in transferrin and ferritin in serum are potential supplementary marker of chronic intoxication with cadmium.

**Key words:** cadmium, lifetime exposure, low dose, multigenerational study, serum proteins.

### ÚVOD

Najnebezpečnejším sprievodným javom industrializácie je neustále sa zvyšujúce znečistenie životného prostredia. Preto sa venuje veľká pozornosť účinkom ťažkých kovov a ich zlúčenín na zdravie človeka a zvierat (ATSDR, 2008). Tieto patria medzi veľmi nebezpečné a nedegradovateľné kontaminanty životného prostredia. Z uvedeného dôvodu je kontaminácia prostredia, vrátane zdrojov pitnej vody veľmi závažný problém (Sharpley, 2007).

Kadmium (Cd) je ubikvitárny polutant životného prostredia a jeho biologické účinky u živočíchov, najmä u zvierat nie sú jasné. Pre človeka je potrava hlavným zdrojom expozície Cd (EFSA, 2009). Biologická dostupnosť kadmia z potravy je dôležitým determinantom jeho

potenciálneho rizika. Fajčenie cigariet predstavuje druhý hlavný zdroj expozície kadmium (Järup et al., 1998), ktorý patrí medzi 10 najtoxickejších látok pre zdravie človeka (ATSDR, 2008). Cd sa klasifikuje ako karcinogén prvej kategórie pre človeka a zvieratá (IARC, 1993). Cd inhibuje viacero enzýmových systémov prostredníctvom tvorby reaktívnych foriem kyslíka (Lovásová et al., 2010). V literatúre sú dobre popísané účinky kadmia pri akútnej intoxikácii. Relatívne málo údajov je ale o chronickej, najmä celoživotnej expozícii (Lukačínová et al., 2008). Pri chronickej expozícii nízkymi dávkami je ťažké predvídať možné následky nielen u exponovanej populácie, ale najmä v následných generáciách.

Na základe uvedených predpokladov smerovala táto štúdia, v snahe poskytnúť komplexnejšie posúdenie účinkov celoživotnej expozície nízkymi dávkami kadmia, na vybrané sérové proteíny počas troch následných generácií potkanov.

## MATERIÁL A METODIKA

### *Zvieratá a podmienky chovu*

60 potkanov kmeňa Wistar (20 samcov a 20 samičiek a ich mláďatá pre reprodukčný pokus, 20 samcov pre hlavný pokus, vo veku 4 týždňov, o priemernej hmotnosti  $120 \pm 19$  g, tab. 1) sme získali z SPF chovu Centrálného zvieratníka Lekárskej fakulty UPJŠ (CZ LF UPJŠ) a použili ako parentálnu generáciu rozdelenú náhodne do dvoch skupín, kontrolnej a kadmium exponovanej skupiny (10 samcov a 10 samíc v každej skupine pre reprodukčný pokus, a 10 samcov v každej skupine pre hlavný pokus). Expozícia kadmium bola zhodná ako v hlavnom pokuse. Mláďatá z reprodukčného pokusu boli použité ako F1 (1. filiálna) generácia a boli podobne rozdelené do dvoch skupín. Ich mláďatá boli použité ako F2 (2. filiálna) generácia a boli podobne rozdelené do dvoch skupín. Potkany v reprodukčnom pokuse boli držané v plastových klietkach (1 samec a 1 samica v klietke). Potkany v hlavnom pokuse boli držané individuálne v celosklených metabolických klietkach s voľným prístupom k pitnej vode a potrave od 52. dňa veku (0. deň v hlavnom pokuse). Všetky skupiny dostávali štandardné krmivo a pitnú vodu, ale pokusné skupiny dostávali chlorid kademnatý v pitnej vode (viď hlavný pokus) počas celého trvania pokusu. Reprodukčný pokus bol ukončený v 78. týždni. Hlavný pokus bol ukončený v 156. týždni pokusu vo všetkých sledovaných generáciách. Zvieratá boli držané v miestnosti s konštantnou teplotou  $22 \pm 2$  °C, relatívnou vlhkosťou 50 %, a pri svetelnom režime 12 h svetlo : 12 h tma. Pokusy boli vykonané v CZ LF UPJŠ, ktoré má akreditáciu pre chovné a pokusné zariadenie. Pokusy boli schválené Etickou komisiou LF UPJŠ a Štátnou veterinárnou a potravinovou správou SR (č. Ro-7879/04-220/3).

<b>Tabuľka 1 Rozdelenie potkanov do skupín</b>	
<b>REPRODUKČNÝ POKUS</b>	
<b>C</b>	<b>Cd</b>
Parentálna generácia (P)	
$10\text{♂} + 10\text{♀}$	$10\text{♂} + 10\text{♀}$
1. filiálna generácia (F1) (mláďatá z P generácie)	
$10\text{♂} + 10\text{♀}$	$10\text{♂} + 10\text{♀}$
2. filiálna generácia (F2) (mláďatá z F1 generácie)	
$10\text{♂} + 10\text{♀}$	$10\text{♂} + 10\text{♀}$
<b>ZÁKLADNÝ POKUS</b>	
<b>C</b>	<b>Cd</b>
Parentálna generácia (P)	
$10\text{♂}$	$10\text{♂}$
1. filiálna generácia (F1) (mláďatá z P generácie)	
$10\text{♂}$	$10\text{♂}$
2. filiálna generácia (F2) (mláďatá z F1 generácie)	
$10\text{♂}$	$10\text{♂}$

#### *Experimentálny protokol hlavného pokusu*

Potkany boli náhodne rozdelené do dvoch skupín ( $n = 10$  samcov v každej skupine) v každej generácii. Kontrolná skupina (C,  $n = 10$ ) dostávala čistú pitnú vodu. Experimentálna skupina (Cd,  $n = 10$ ) dostávala pitnú vodu obsahujúcu chlorid kadmový dvojvodý v koncentrácii  $20 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ; t.j.  $2,0 \text{ mg Cd.l}^{-1}$  pitnej vody, čo zodpovedalo 200-násobku MPK (maximálne prípustná koncentrácia) vo vode. Toto usporiadanie platilo aj pre F1 a F2 generáciu.

Každých 13 týždňov pokusu sme stanovili prežítie, priemernú dobu života, príjem potravy, príjem vody a celkové hladiny proteínu, albumínu, transferínu a feritínu v sére. Krv bola odoberaná vždy ráno medzi 7. a 9 hodinou.

#### *Biochemické analýzy*

**Príprava vzoriek:** Krv bola odoberaná z chvostovej žily. Vyšetrovali sme nasledovné ukazovatele: **Celkové proteíny.** Použili sme biuretovú metódu pre jej jednoduchosť, rýchlosť a spoľahlivosť v modifikácii ako popísali Flack a Woollen (1984).

**Albumín, transferín a feritín** boli stanovené použitím komerčných testov firmy Dot Diagnostics, s. r. o., Česká republika.

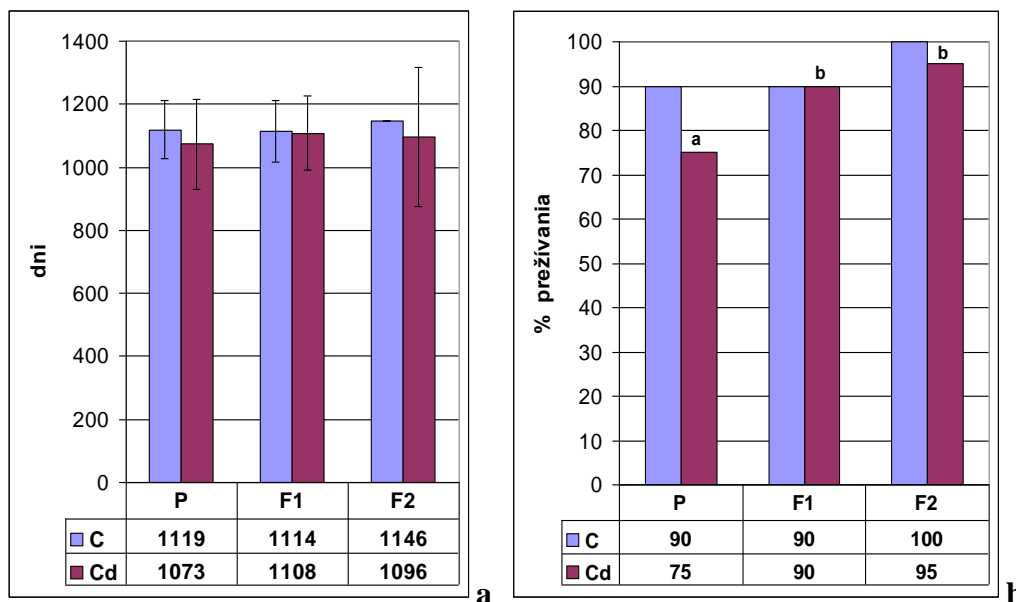
### Štatistické analýzy

Výsledky boli vyhodnotené Studentovým *t*-testom a Mann–Whitney U-testom alebo jednocestnou ANOVA s následným Newman-Keuls *post hoc* testom. Na korelačnú analýzu sme použili Spearmanov test. Výsledky sú vyjadrené ako priemer  $\pm$  S.D. Za štatisticky významnú sme považovali hladinu  $P < 0,05$ .

## VÝSLEDKY

### Dĺžka života a prežívanie

Dĺžka života v jednotlivých skupinách a generáciách v 156. týždni pokusu je uvedená na obr. 1a.



**Obrázok 1** Dĺžka života (a) a percento prežívania (b) v 156. týždni pokusu (priemer  $\pm$ S.D.).

(P = parentálna generácia; F1 a F2 = filiálne generácie, a =  $P < 0,05$  medzi kontrolnou a exponovanou skupinou; b =  $P < 0,05$  medzi P a F1 alebo F2 generácia)

Medzi skupinami ani generáciami neboli zistené štatisticky významné rozdiely pri hodnotení dĺžky života. Prežívanie potkanov je uvedené na obr. 1b. V P generácii sme zistili 75 % prežívanie u potkanov po expozícii kadmiiom, čo je štatisticky významne nižšie ako v kontrolnej skupine ( $P < 0,05$ ), kde prežívalo 90% potkanov. V skupine po expozícii kadmiiom v následných generáciách prežívanie významne stúpalo ( $P < 0,05$ ) až na úroveň v kontrolnej skupine.

Najčastejšou príčinou mortality boli tumory. Najbežnejšie nálezy získané pri prehliadkach zdravotného stavu a následnou pitvou uhynutých potkanov uvádzame v tab. 2.

<b>Tabuľka 2 Bežné nálezy u exponovaných a kontrolných zvierat (P/F1/F2)</b>		
<b>Nález</b>	<b>C</b>	<b>Cd</b>
Nádory	0/1/1	2/3/5
Nálezy na GIT	1/1/0	1/0/0
Retardácia rastu	0/0/2	0/3/3
Alopécia	0/0/2	0/2/6
Strata chvostov	0/0/0	0/0/3
GIT = gastrointestinálny trakt		

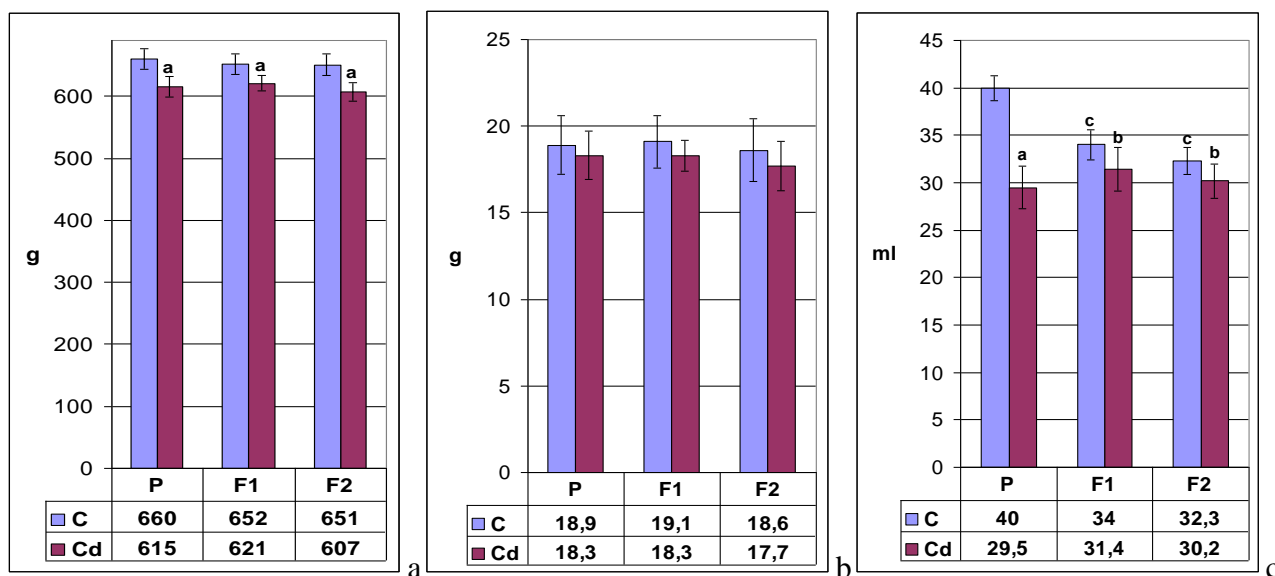
V expozičných hladinách (toxikologické ukazovatele) medzi vyšetrovanými generáciami neboli zistené významné rozdiely (tab. 3).

<b>Tabuľka 3 Vybrané toxikologické ukazovatele</b>			
<b>Ukazovateľ</b>	<b>Cd</b>		
<b>GENERÁCIA</b>	<b>P</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>
<b>Celková dávka obdržaná počas pokusu v mg.kg<sup>-1</sup> ž.hm.</b>	144,4	148,1	139,8
<b>% LD<sub>50</sub></b>	64,2	65,8	62,1
<b>ADD v mg.kg<sup>-1</sup>.deň<sup>-1</sup></b>	0,132	0,134	0,130
<b>LADD v mg.kg<sup>-1</sup>.deň<sup>-1</sup></b>	0,129	0,130	0,127
P = parentálna generácia; F1 a F2 = filiálne generácie; LD <sub>50</sub> = 50%-ná letálna dávka 50%; ADD = priemerná denná dávka; LADD = celoživotná priemerná denná dávka			

#### *Telesná hmotnosť, príjem potravy a vody*

Telesná hmotnosť (obr. 2a) bola významne nižšia ( $P < 0,001$ ) vo všetkých generáciách. V rámci skupín medzi generáciami rozdiely neboli významné.

Príjem potravy nebol odlišný medzi skupinami, aj keď u exponovaných potkanov bol mierne nižší, ale štatisticky nevýznamný. Medzi generáciami rozdiely neboli (obr. 2b).



**Obrázok 2** Telesná hmotnosť (a), príjem potravy (b) a vody (c) v 156. týždni pokusu (priemer  $\pm$ S.D.). (P = parentálna generácia; F1 a F2 = filiálne generácie, a =  $P < 0,001$ ; b =  $P < 0,05$  medzi kontrolnou a exponovanou skupinou; c =  $P < 0,05$  medzi P a F1 alebo F2 generáciou)

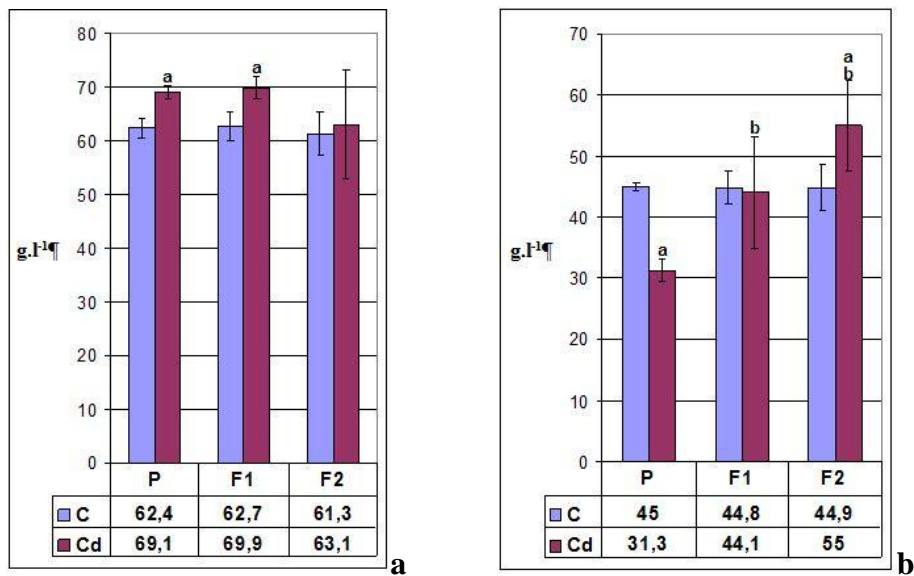
Príjem vody bol významne nižší ( $P < 0,001$  v P generácii a  $P < 0,05$  v F1 a F2 generácii) u potkanov exponovaných kadmim (obr. 2c). Medzi generáciami u exponovaných zvierat nebol zistený významný rozdiel. U neexponovaných kontrolných potkanov v následných generáciách príjem vody klesal.

#### *Vplyv na celkový proteín v sére*

Celkový proteín v 156. týždni pokusu v sledovaných skupinách je uvedený na obr. 3a. Zistili sme štatisticky významný vzostup hladín celkových proteínov ( $P < 0,001$ ) u potkanov po expozícii kadmim v P a F1 generácii oproti kontrolnej skupine. Medzi filiálnymi generáciami neboli zistené štatisticky významné rozdiely v hladinách celkových proteínov v sére.

#### *Vplyv na albumín v sére*

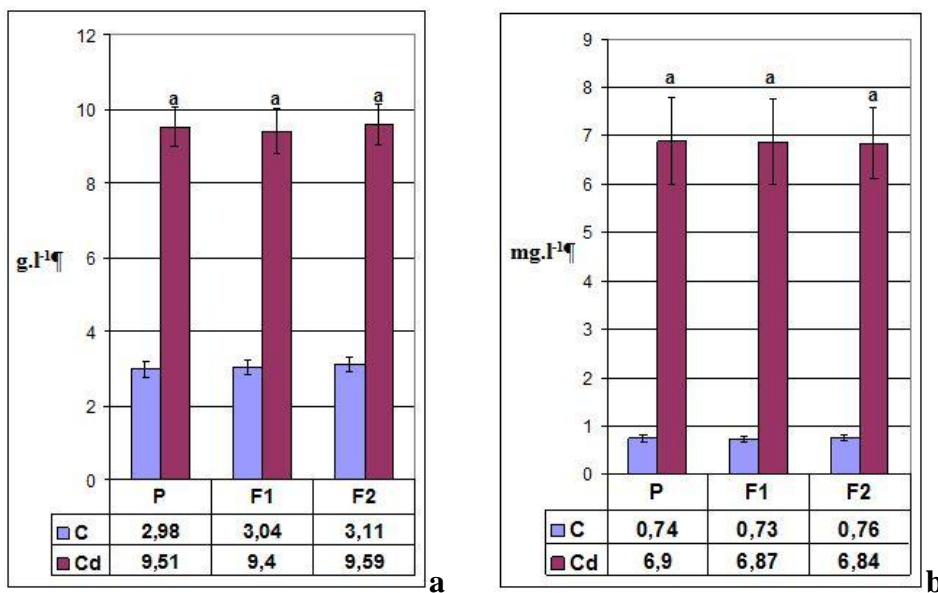
Hladina albumínu významne klesla v parentálnej generácii ( $P < 0,001$ ) po expozícii kadmim (obr. 3b). V F1 a F2 generácii hladiny albumínu v sére stúpali po expozícii kadmim, ale tento vzostup bol významný len v F2 generácii ( $P < 0,001$ ). V porovnaní ku parentálnej generácii bol významný vzostup v hladinách albumínu po expozícii kadmim ( $P < 0,05$ ) v F1 aj F2 generácii.



**Obrázok 3 Celkový proteín (a) a albumín in sére (b) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.D.).**  
 (P = parentálna generácia; F1 a F2 = filiálne generácie, a = P<0,001 medzi kontrolnou a exponovanou skupinou; b = P<0,05 medzi P a F1 alebo F2 generáciou)

*Vplyv na transferín v sére*

Hladiny transferínu v sére stúpili vysoko významne (P<0,001) vo všetkých skupinách exponovaných kadmom (obr. 4a). Medzi generáciami neboli zistené štatisticky významné rozdiely ani v jednej zo sledovaných skupín.



**Obrázok 4 Transferín (a) a feritín v sére (b) v 156. týždni pokusu (priemer ±S.D.).**  
 (P = parentálna generácia; F1 a F2 = filiálne generácie, a = P<0,001 medzi kontrolou a exponovanou skupinou; b = P<0,05 medzi P a F1 alebo F2 generáciou)

*Vplyv na feritín v sére*

U potkanov exponovaných kadmium (obr. 4b) boli hladiny feritínu vysoko významne zvýšené ( $P < 0,001$ ). Medzi generáciami neboli zistené významné rozdiely v žiadnej zo sledovaných skupín.

**DISKUSIA**

Na základe analýzy súčasného stavu poznania a našich pokusov s celoživotnou expozíciou potkanov s nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode sme získali veľmi zaujímavé výsledky, v neposlednom rade nové pohľady na zostavenie experimentálnych protokolov, možných spôsobov interpretácie výsledkov takýchto štúdií. Je potrebné podotknúť, že pokusy tohto typu sú náročné na čas, prácu a vyžadujú vysoké ekonomické náklady.

Nízky účinok kadmia pri hodnotení doby života oproti iným ťažkým kovom (Ništiar et al., 2010) je možné vysvetliť tým, že kadmium je považovaný za esenciálny stopový prvok (Lafuente et al., 2001). Ďalším možným vysvetlením môže byť to, že potkany za celú dobu pokusu prijali len 62 – 66% LD<sub>50</sub> pre jednorázovú aplikáciu per os. Za LD<sub>50</sub> sa považuje dávka 225 mg.kg<sup>-1</sup> ž.hm. (Kotsonis a Klaasen, 1977).

Telesná hmotnosť vykazovala pozitívnu koreláciu s príjmom potravy ( $r = +0,77$ ) a čiastočne aj s príjmom vody ( $r = +0,64$ ). Predpokladáme, že príjem vody by mohol byť určujúcim faktorom príjmu potravy a zároveň aj prírastku hmotnosti. Takúto závislosť popísali aj iné štúdie (Shibutani et al., 2001). V každom prípade však príjem kadmia závisel od príjmu vody.

Hladiny celkového proteínu (TP) v sére potkanov kmeňa Wistar na základe údajov CZ LF UPJŠ sa pohybujú okolo 65 ± 5 g/l (Ništiarová a Ništiar, osobné referencie). Mierne nižšie hodnoty udávajú Windberger a spol. (2003), ktorí zistili hladiny okolo 61 (54 – 65) g/l. Komerční dodávatelia potkanov kmeňa Wistar udávajú hodnoty v rozmedzí 61 – 65 g/l pre samce 1-2 mesiace staré. Hodnoty môžu závisieť od kŕmenia, hygienického režimu, spôsobu chovu, spôsobu manipulácie a experimentálnych úkonov. U kontrolných (neexponovaných) potkanov hladiny TP klesali počas pokusu postupne (od hodnôt 84 po 62 g/l). U potkanov exponovaných kadmium hladiny TP v P generácii postupne klesali do 104. týždňa pokusu a potom mali stúpajúci trend až do konca pokusu. V F1 generácii exponovaných potkanov TP klesali do 104. týždňa a potom až do konca pokusu ostali na rovnakej úrovni, zatiaľ čo v F2 generácii klesali až do konca pokusu podobne ako u kontrolnej skupiny. Na základe zistených údajov hladiny celkových proteínov sa nejavia ako marker chronickej intoxikácie kadmium.

Albumín je vysoko homogénny sérový proteín tvorený jedným silne elektronegatívnym reťazcom pozostávajúcím z 566 – 621 aminokyselín, s molekulovou hmotnosťou 67 ± 2 kDa (Koltun et al., 2005). U potkanov je produkovaný pečeňou a hladiny v sére sú v rozmedzí 36 – 49 g/l. Jeho hladiny vekom klesajú. Albumín udržiava osmotický tlak plazmy a transportuje rôzne



látky, vrátane ionizovaných kovov. Dynamika jeho hladín bola rozdielna v jednotlivých generáciách, a preto ho nepovažujeme za vhodný marker chronickej intoxikácie kadmim.

Transferín je polypeptidový reťazec tvorený približne 676 aminokyselinami a dvoma uhl'ovodíkovými reťazcami, ktorý viaže dva atómy  $\text{Fe}^{3+}$ . Molekulovú hmotnosť má okolo 81 kDa. Podobne ako albumín je produkovaný najmä pečenoú, ale môže byť tvorený aj v kostnej dreni, slezine a lymfatických uzlinách. Jeho hlavná úloha spočíva v transporte a výmene železa v organizme. Za fyziologických podmienok je asi z 1/3 saturovaný železom, a preto môže transportovať aj iné ionizované kovy, vrátane kadmia a takto ho eliminovať z organizmu. Referenčné hodnoty v sére potkanov sú okolo 2,7 až 4,8  $\text{g.l}^{-1}$ . Vzostup transferínu v sére sa zdá byť dobrým doplnkovým markerom chronickej intoxikácie kadmim.

Feritín je ubikvitárny, silne konzervatívny proteín viažuci železo. 24 feritínových podjednotiek vytvára apoferitínovú kostru a každá molekula apoferitínu je schopná viazať asi 4 500 atómov železa (Harrison a Arosio, 1996). Feritín sa vyznačuje enzýmovou aktivitou, oxiduje  $\text{Fe}^{2+}$  na  $\text{Fe}^{3+}$  internalizáciou a sekvestráciou na svoju molekulu. Sérový feritín je chudobný na železo, a preto má vysokú väzbovú kapacitu pre ióny iných kovov. Spolu s transferínom patrí do veľkej rodiny proteínov zúčastnených v obrane proti stresu a zápalu (Torti et al., 1988). U potkanov sú referenčné hodnoty feritínu v rozsahu 600 – 1400  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (Ward et al., 1977). V literatúre sme nenašli relevantné údaje o úlohe feritínu pri chronickej otrave kadmim. Na základe našich výsledkov sa zdá, že vzostup feritínu v sére by mohol byť perspektívnym doplnkovým markerom intoxikácie kadmim.

Pokiaľ ide o interpretáciu výsledkov bude dôležité zistiť vzťahy medzi dávkou, hladinou ťažkých kovov v tkanivách (distribúcia) a následnú biologickú odpoveď. Je dôležité zohľadniť aj druhové rozdiely, najmä pri extrapolácii výsledkov z jedného druhu na iný, ako aj pri porovnaní štúdií s použitím nízkych alebo vysokých dávok. Pre lepšiu interpretáciu výsledkov bude potrebné v týchto štúdiách pokračovať, doplniť vyšetřované parametre o ďalšie, ktoré sú pre vysvetlenie zistených výsledkov rozhodujúce.

## ZÁVER

Získané výsledky rozširujú naše poznatky o celoživotnej expozícii nízkymi dávkami kadmia v pitnej vode u potkanov. Z výsledkov vyplýva, že transferín a feritín sú vhodné doplnkové markery chronickej intoxikácie kadmim.

## Pod'akovanie

Práca bola podporená grantmi Ministerstva školstva VEGA 01/8235/01 a 01/0387/10.

## Literatúra

1. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2008. *Toxicological profile for cadmium*. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, September 2008, p. 1-454.
2. EFSA (European Food Safety Authority). 2009. Cadmium in food. In *The EFSA Journal*, vol. 980, 2009, p. 1-139.
3. FLACK, C.P., WOOLLEN, J.W. 1984. Prevention of interference by dextran with biuret-type assay of serum proteins. In *Clinical Chemistry*, vol. 30, 1984, p. 559-561.
4. HARRISON, P.M., AROSIO, P. 1996. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. In *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1275, 1996, p. 161-203.
5. IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993. *Cadmium and cadmium compounds. Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry*. In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol. 58, 1993, p. 119-237.
6. JÄRUP, L., BERGLUND, M., ELINDER, C.G., NORDBERG, G., VAHTER, M. 1998. Health effects of cadmium exposure – a review of the literature and a risk estimate. In *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, vol. 24 (Suppl. 1), 1998, p. 1-51.
7. KOLTUN, M., NIKOLOVSKI, J., STRONG, K., NIKOLIC-PATERSON, D., COMPER, W.D. 2005. Mechanism of hypoalbuminemia in rodents. In *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, vol. 288, 2005, p. H1604-H1610.
8. KOTSONIS, F.N., KLAASEN, C.D. 1977. Toxicity and distribution of cadmium administered to rats at sublethal doses. In *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 41, 1977, p. 667-680.
9. LAFUENTE, A., MÁRQUEZ, N., PÉREZ-LORENZO, M., PAZO, D., ESQUIFINO, A.I. 2001. Cadmium effects on hypothalamic-pituitary-testicular axis in male rats. In *Experimental Biology and Medicine*, vol. 226, 2001, p. 605-611.
10. LOVÁSOVÁ, E., BRENIŠIN, M., NIŠTIAR, F. 2010. Kovy a oxidačný stres – význam v signálnej transdukcii. In: BEŇAČKA, R. (Ed.): *Patofyziológia 2010. Zborník prác*. UPJŠ LF, Košice, 2010, p.29-31. ISBN 978-80-7097-827-6
11. LUKAČÍNOVÁ, A., BEŇAČKA, R., LOVÁSOVÁ, E., RÁCZ, O., NIŠTIAR, F. 2008. Reproduction parameters in low dose chronic exposure with heavy metals in rats. In *Polish Journal of Environmental Studies*, vol. 17, 2008, p. 911-915.
12. NIŠTIAR, F., LUKAČÍNOVÁ, A., RÁCZ, O., BEŇAČKA, R. 2010. Celoživotná expozícia nízkymi dávkami ťažkých kovov počas troch generácií u potkanov. Úskalia a východiská.

- In BEŇAČKA, R. (Ed.): *Patofyziológia 2010. Zborník prác.* UPJŠ LF, Košice, 2010, p. 53-58. ISBN 978-80-7097-827-6.
13. SHARPLEY, A. 2007. Soil and water contamination: From molecular to catchment scale. In *Journal of Environmental Quality*, vol. 36, 2007, p. 607-608.
14. SHIBUTANI, M., MITSUMORI, K., SATOH, S., HIRATSUKA, H., SATOH, M., SUMIYOSHI, M., NISHIJIMA, M., KATSUKI, Y., SUZUKI, J., NAKAGAWA, J., AKAGI, T., IMAZAWA, T., ANDO, M. 2001. Relationship between toxicity and cadmium accumulation in rats given low amounts of cadmium chloride or cadmium-polluted rice for 22 months. In *Journal of Toxicological Sciences*, vol. 26, 2001, p. 337-358.
15. TORTI, S.V., KWAK, E.L., MILLER, S.C., MILLER, L.L., RINGOLD, G.M., MYAMBO, K.B., YOUNG, A.P., TORTI, F.M. 1988. The molecular cloning and characterization of murine ferritin heavy chain, a tumor necrosis factor-inducible gene. In *Journal of Biological Chemistry*, vol. 263, 1988, p. 12638-12644.
16. WARD, C., SALTMAN, P., RIPLEY, L., OSTRUP, R., HEGENAUER, J., HATLEN, L., CHRISTOPER, J. 1977. Correlation of serum ferritin and liver ferritin iron in the anemic, normal, and iron-loaded rat. In *American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 30, 1977, p. 1054-1063.
17. WINDBERGER, U., BARTHOLOVITCH, A., PLASENZOTTI, R., KORAK, K.J., HEINZE, G. 2003. Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. In *Experimental Physiology*, vol. 88, 2003, p. 431-440.

### **Kontaktná adresa**

MVDr. Jaroslava Nováková, PhD., Department of Pathological Physiology, Faculty of Medicine, Šafárik University, Trieda SNP 1, 040 66 Košice, Slovak republic, E-mail: jaroslava.novakova@upjs.sk, Phone: +421 55 640 44 76, Fax: +421 55 642 33 50