

KBB/TOX – Toxikologie

(pro navazující studium)

**Přednáška č.9 – Látky s nežádoucími
vlivy na matku a vyvíjející se plod II.**

Radim Vrzal

Katedra buněčné biologie a genetiky

Návykové látky a vývojová/reprodukční toxicita

Cigaretový kouř

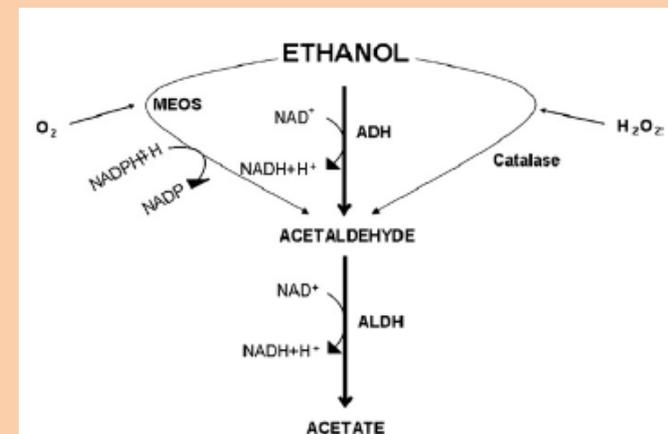
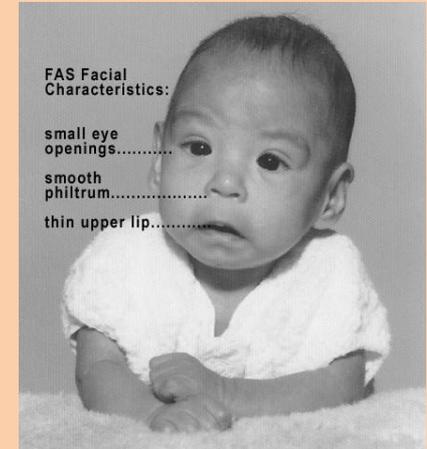
- Komplexní směs víc jak 4000 látek, zahrnující škodliviny jako **nikotin, Cd, PAH, aromatické aminy**
- Asociace kouření a vzniku rakoviny plic - 1964
- **Pasivní kouření** = příčina předčasného úmrtí, kouř z pálení cigaret + vydechovaný kouř kuřáky
- V USA 30% žen a 35% v reprodukčním věku kouří
- Nežádoucí účinek na ženskou plodnost !!!
- **Kouření v těhotenství** = **nízká porodní váha, předčasný porod, spontánní potrat, mimoděložní těhotenství - následně v pozdější době života rakovina, obezita, vysoký krevní tlak**
- Urychluje ztrátu folikulu a uspíšení menopauzy o 1-4 roky
- Data z IVF = kuřáci vyžadují 2x vyšší počet pokusů
- Poškození genů v gametách a embryích, včetně změny maturace oocyty a DNA adduktů ve spermiích
 - **Nikotin** – vazba na cholinergní receptory, zodpovědný za kognitivní, emocionální, behaviorální problémy u dětí kuřáků
 - **CO** – vazba na Hb → fetální hypoxie
 - **PAHs** - aktivace AhR, indukce CYP1A1/1B1 – tvorba adduktů (BaP)
 - **genetika** – určité varianty CYP1A1/GSTT1 zvyšující citlivost na složky kouře



Návykové látky a vývojová/reprodukční toxicita

Alkohol

- Důkazy o konzumaci z Egypta, Babylónu
- Symbolická role v náboženských obřadech
- Využíván vedle rekreační role jako anestetikum, dezinfekční prostředek, sedativum v kombinaci s opiem
- Poruchy dané mateřskou konzumací alkoholu = **fetal alcohol spectrum disorders (FASD)**
 - nejběžnější = **fetální alkoholový syndrom (FAS)**
 - mateřská expozice, faciální abnormality, pre- či postnatální retardace růstu
 - neurofyziologická změna = obtíže s aritmetikou či zpracováním čísel, učení, poruchy pozornosti, změna v rozhodovacích funkcích (úsudek, organizace, argumentace)
- Absorpce GIT, začíná v ústech a pokračuje v žaludku a tenkém střevě
- **Detekován v krvi do 5min po pozření,**
- **Cmax po 30-90minutách** - dle obsahu žaludku
- Distribuován do celého těla dle obsahu vody → krev a následně svaly a tuková tkáň
- Metabolismus – AHD, CYP2E1 (metabolická tolerance), kataláza



Návykové látky a vývojová/reprodukční toxicita

Alkohol – mechanismus účinku *in utero*

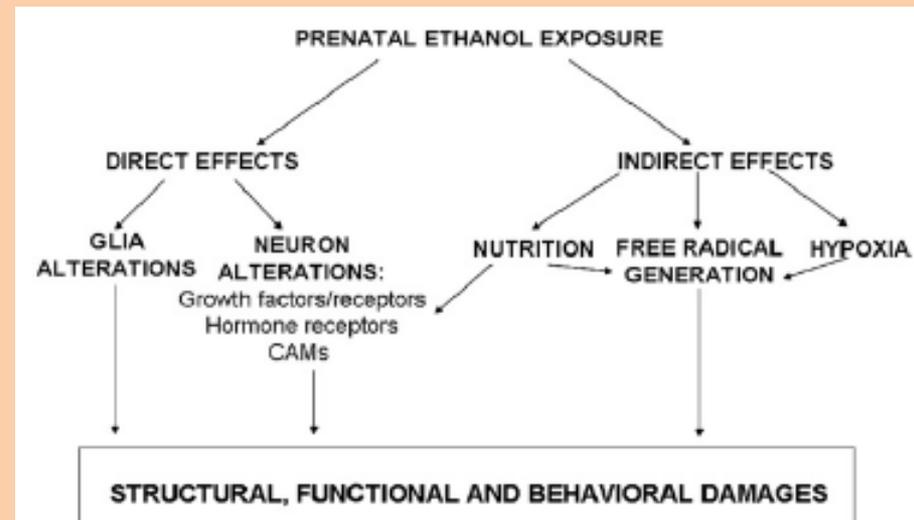
- neokortex, mozeček, hipokampus – vysoká citlivost na ethanol
 - Poškození závisí na dávce
 - **acetaldehyd** – mutagenní a teratogenní – reakce s NH_2 , SH skupinami proteinů, změna struktury a funkce mitochondrií = zpomalení oxidačního metabolismu, kondenzace s biogenními aminy = neurotoxikanty (salsolinol, harman)
 - **účast CYP2E1** – aktivace karcinogenů (CCl_4 , aminopterin), produkce ROS
 - **inhibice NMDA** receptorů
 - **změna katabolismu homocysteinu** – pokles folátu zvyšuje homocystein, který je agonista NMDA a glycinových receptorů
- **Narušení vývoje mozku**, závisí na době gravidity

1 trimestr – defekty neurální trubice a kraniofaciální abnormality

2 trimestr – strukturální abnormality mozku

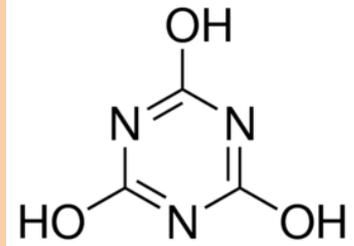
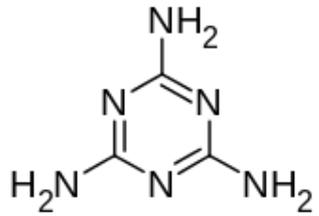
3 trimestr – mikrocefálie, behaviorální dysfunkce

Narušení vývoje trvající po dobu života !!!



Potravní doplňky

Melamin a kyanurová kyselina

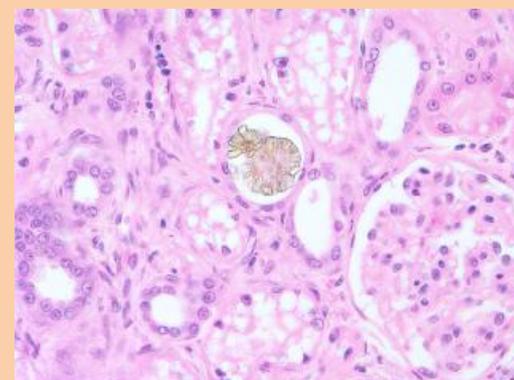
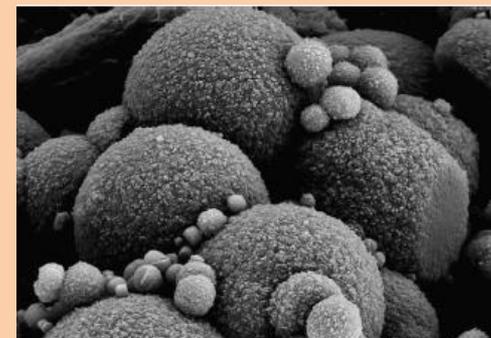
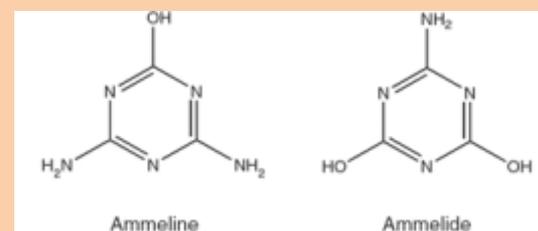


- Na výrobu plastů, lepidel, čistících prostředků, žlutých barev (Yellow 150)
- Polymeruje s formaldehydem za vzniku odolných pryskyřic
- Kyanurová kyselina je meziprodukt při výrobě melaminu - ke stabilizaci chloru v bazénech
- Melamin obsahuje 67% váhových dusíku → **falešná náhražka proteinů**
- **2007 USA** - renální selhání u psů a koček po požití komerčních granulí pšeničného lepku (wheat gluten) a rýžového proteinu (rice protein) – úmyslně chybné označení !!!



Melamin a kyanurová kyselina

- **Biodostupnost** Melaminu je nízká (kočky a psy) - kontaminanty: kyanurová kyselina, ammelid, ammelin
- Přes 150 produktů pro domácí mazlíčky staženo
- Obsah až 3200ppm melaminu a 600 ppm kyanurové kyseliny
- **Příznaky u zvířat:** nechutenství, zvracení, polyurie, letargie - Nálezy kulatých zeleno-hnědých krystalů v močovém sedimentu (složení: 70% kyanurové kyseliny a 30% melaminu)
- **2008** – přítomnost v mléčných produktech pro děti v Číně !! – obchodování → 70 zemí světa
- 2.5-2563 ppm v komerčně dostupných mléčných prášcích
- **Odhad:** zasaženo 300 000 dětí , víc jak 52 000 hospitalizováno, 6 zemřelo – stáří 6-18 měsíců
- Meziprodukty degradace a výroby melaminu nebyly významné kontaminanty
- **Litiázy:** melamin a kyselina močová po 3-6 měsících (2-18 mm)



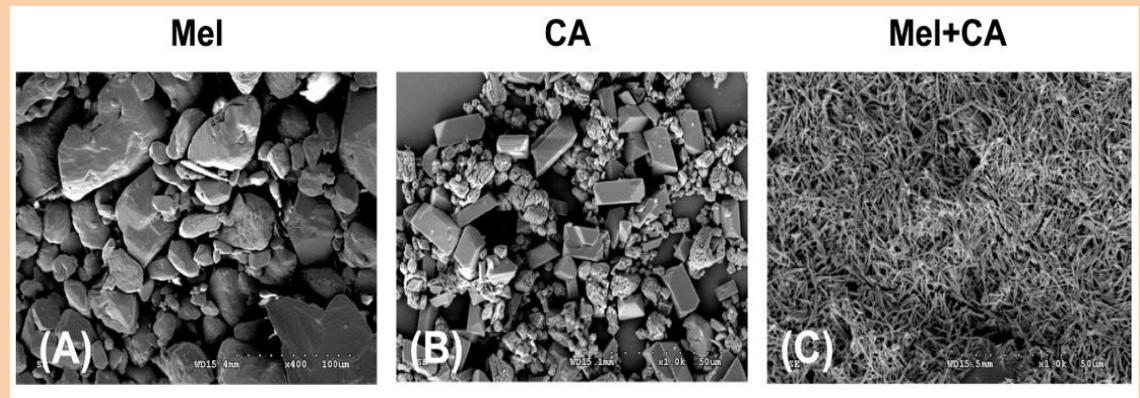
- **Příznaky u dětí:** zvýšená či snížená frekvence močení, anurie, hematurie, litiázy v moči – mnoho dětí asymptomatických

Melamin a kyanurová kyselina (CA)

- Rychlá absorpce a exkrece močí, nevýznamný metabolismus
- Nedochází k akumulaci v těle
- Melamin je eliminován z 90% během 1 dne
- Vylučován dobyt看kem do mléka, ukládá se do vajec slepic během 1-2 dnů po expozici

Při **současném podání** (Mel+CA) – tvorba krystalů s mřížkovitou strukturou při pH 5.8

- **Renální obstrukce** s následným zvýšením intrarenálního tlaku



- Nízká toxicita pro potkany a myši – $LD_{50} = 3200-7000\text{mg/kg}$ – melamin, podobně i u CA
- Nevykazuje mutagenní či teratogenní vlastnosti
- Kojenci citlivější než dospělí – 5-8x vylučují více kyseliny močové

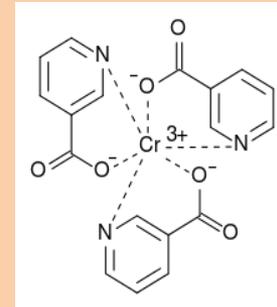
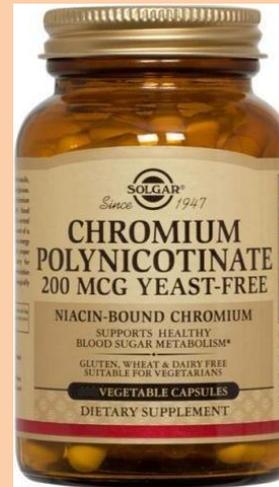
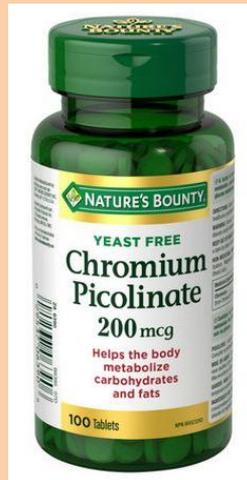
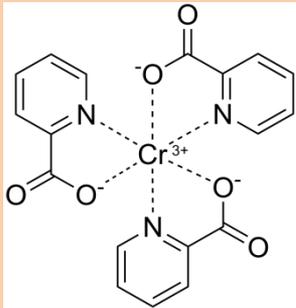
Léčba - pití tekutin, alkalizace moči ke zvýšení pH na 6-7.8 intravenosní aplikací NaHCO_3 , citrátu draselného

Vybrané rostlinné přípravky a nutraceutika

- Použití v době těhotenství
 - zklamání či nedůvěra v bezpečnost standardní farmakoterapie
 - osobní kontrola nad zdravím
- Některé mají mírný dopad, jiné jsou silně teratogenní

Doplňky s obsahem chromu

- Cr^{3+} - esenciální pro normální metabolismus sacharidů a lipidů
- blahodárné účinky na regulaci insulinu, kardiovaskulární nemoci (nižší hodnoty pro diabetiky)
- s věkem hladina klesá

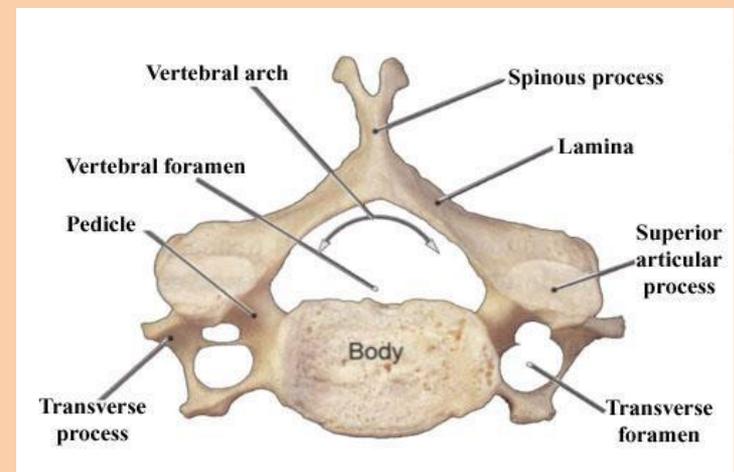


Cr^{3+} doplňky doporučeny těhotným ženám u kterých byl diagnostikován gestační diabetes !!!

Doplňky s obsahem chromu

Pikolinát chromitý (CrPic)

- Podporuje ztrátu tuků a nárůst svalů u člověka
- U potkanů asociován s oxidativním poškozením DNA, mutacemi a fragmentací
- U myši CrPic 200 mg/kg denně - 6-17 dní březosti – nárůst rozdělení šijového oblouku u plodů
- Alternativní studie stejné skupiny o 2 roky později – nic nenašla



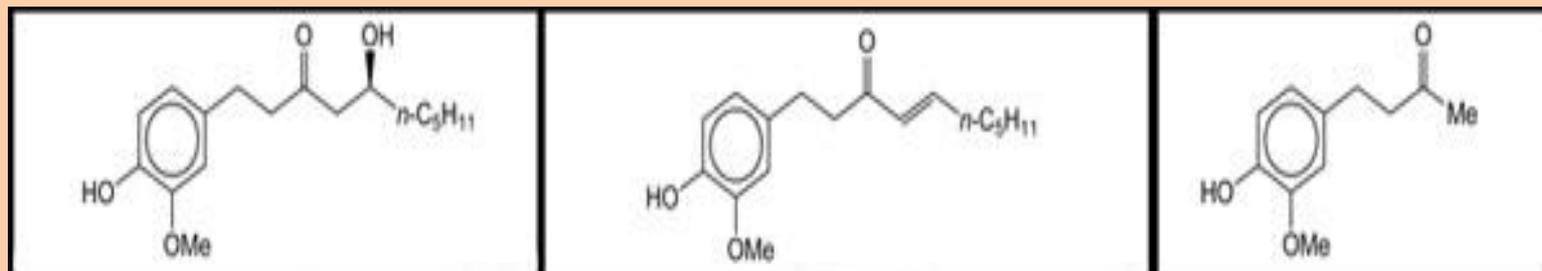
Polynikotinát chromitý

- dvou-generační studie neodhalila na potkanech žádné abnormality či mortalitu až do dávek 60 ppm (8 mg/kg/den) po dobu 10 týdnů, během páření, gravidity, laktace



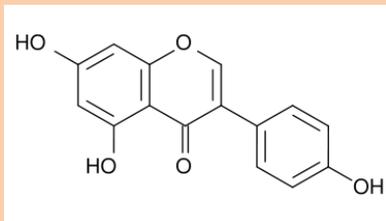
Zázvor (Ginger; *Zingiber Officinale*)

- V Asii, Indii – na léčbu potíží se žaludkem, průjmem, zvracením, artritidou
- Po celém světě na **nachlazení, chřipku**, bolesti hlavy či bolestivou menstruaci
- Doporučení na léčbu kinetózy (motion sickness), nauzeu či zvracení spojené s těhotenstvím či chemoterapií
- Aktivní složky: zingerone, shogaols, gingerols

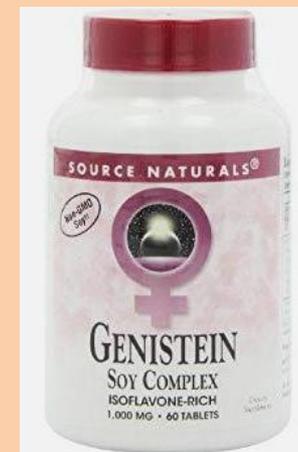


- zvyšují motilitu GIT a mají antipyretické, sedativní, antibakteriální vlastnosti
- **Některé studie naznačují zvýšení frekvence spontánního abortu !!**
- **Potkani – zázvorový čaj během březí → dvojnásobná ztráta embryí !!! Přeživší plody těžší než u kontrolní skupiny, vyvinutější kostra.**

Genistein

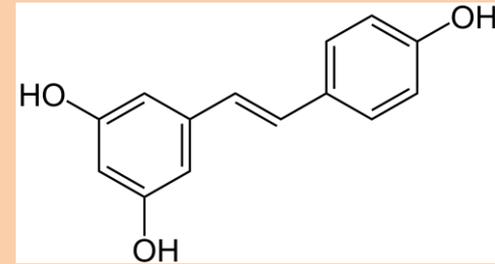


- Fytoestrogen s výskytem v **sóji a sójových** produktech
- Vysoká konzumace v Asii
- Potenciální riziko kvůli podobnosti s estradiolem, afinita k ER cca 100x nižší
- **Whole embryo culture assay** (WEC) popsala malforace pro koncentrace 10 a 100µg/ml, avšak *in vivo* GIT cestou nezaznamenala žádné nežádoucí účinky
- Studie s až 1000mg/kg/den od 6-20 dne březí → mírná **mateřská toxicita** (snížená hmotnost, konzumace stravy) a zvýšená mortalita mláďat (snížená hmotnost, snížení příjmu mléka)
- NOAEL byl navržen 100 mg/kg/den perorálně – FDA schvaluje jako bezpečné !!!
(GRAS, <http://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/>)



Resveratrol

- Nachází se v **hroznech** a ostatních rostlinách
- 1992 – spojen s **Francouzským Paradoxem**
- Některé studie spojují s inhibicí vzniku rakoviny, prodloužením délky života
- *In vitro* působí jako agonista/antagonista ER v závislosti na typu tkáně či přítomnosti isoform ER α / β
- **Studie 1:** Potkani po dobu 90 dní dostávali 20mg/kg → snížení průměru ale zvýšení hustoty semenných kanálků, nárůst v počtu spermií a plazmatické hladině LH, FSH, Testosteronu
- **Studie 2:** 3 mg/l v pitné vodě, 4 týdny – pokles v hmotnosti semenných váčků a sleziny u samců v F0, F1, žádný vliv na počet spermií
- Dle FDA = GRAS



Zelený čaj

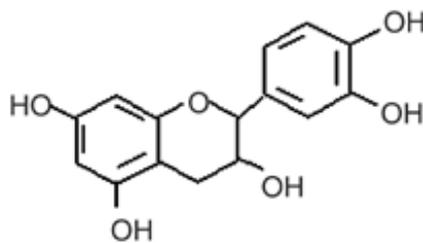
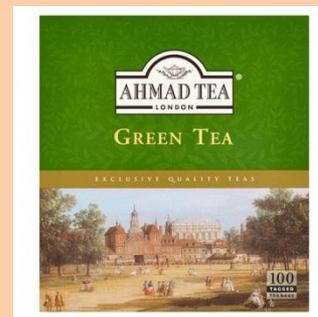
- Včetně katechinů byl prokázán, že má **protinádorové vlastnosti**

- **Pití během těhotenství se nedoporučuje** → kofein

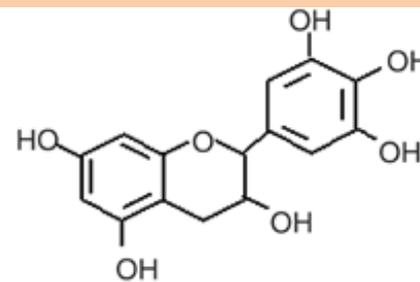
- 1 studie: vznik defektů neurální trubice

- Většina studií na potkanech:
EGCG podáván skrz GIT či SC
= žádná fetální toxicita

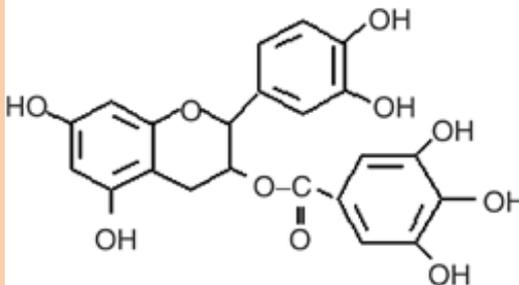
- Indukuje CYP2B a snižuje CYP3A
expresi → vliv např. na toxicitu
cyklofosfamidu – zvýšení
teratogenních účinků !!!



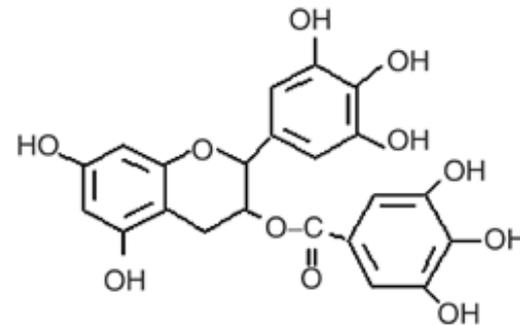
(-)-Epicatechin (EC)



(-)-Epigallocatechin (EGC)



(-)-Epicatechin-3-gallate (ECG)



(-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)

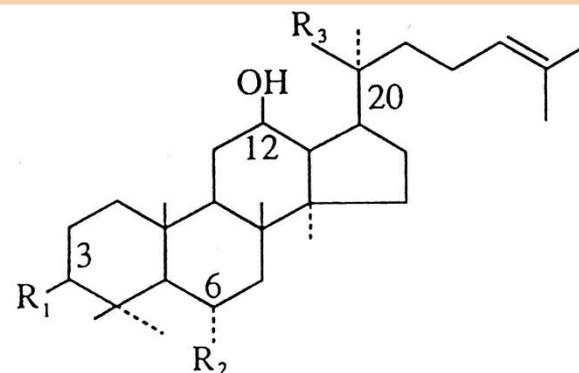
Ženšen (Gingseng, *Panax ginseng*)

- V čínské medicíně ke zvýšení rezistence na stress a infekce
- Též na léčbu nespavosti, anémie, chronické únavy, DM, angíny
- *In vitro* důkaz o teratogenicitě na ginsenosidy



2 generační studie na potkanech –
extrakt ženšenu do dávky 15
mg/kg/den → **žádný důkaz**

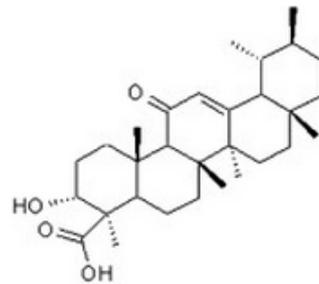
toxicity



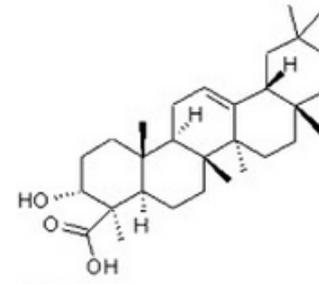
<i>Ginsenosides</i>	R ₁	R ₂	R ₃
Ginsenoside-Rb ₁	-O-Glc ² -Glc	-H	-O-Glc ⁶ -Glc
Ginsenoside-Rc	-O-Glc ² -Glc	-H	-O-Glc ⁶ -Ara (pyr)
Ginsenoside-Re	-OH	-O-Glc ² -Rha	-O-Glc
Ginsenoside-Rf	-OH	-O-Glc ² -Glc	-OH
Ginsenoside-Rg ₁	-OH	-O-Glc	-O-Glc

Kadidlovník pilovitý (Boswellia Serrata)

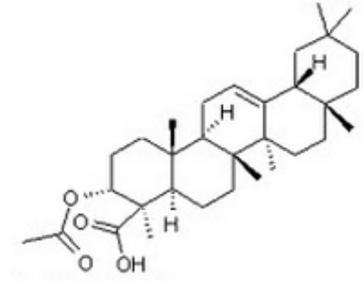
- Protizánětlivé účinky žvýkačky z pryskyřice
- Boswelové kyseliny – AKBA inhibuje 5-lipoxygenasu
- Doposud žádné známé toxické účinky na matku či plod.



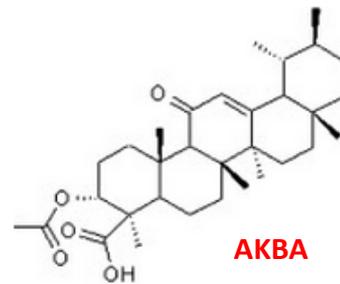
11-keto- β -Boswellic Acid



α -Boswellic Acid

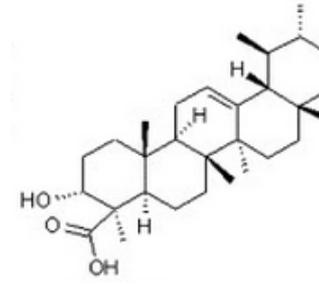


Acetyl- α -Boswellic Acid

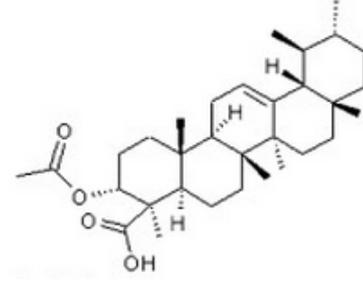


AKBA

3-O-Acetyl-11-keto- β -Boswellic Acid



β -Boswellic Acid

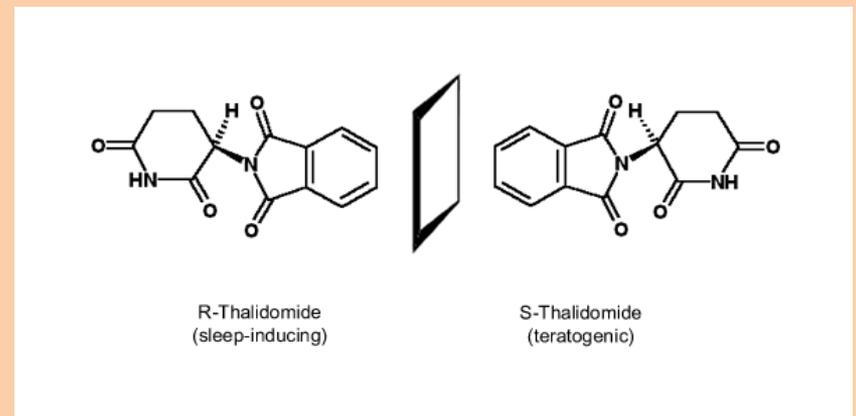


Acetyl- β -Boswellic Acid

Pharmaceutika

Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide))

- derivát glutamové kyseliny, obsahuje chirální centrum
- K léčbě nevolností u těhotných žen → 1957-1961 – víc jak 10 000 dětí postižených
- V současnosti k léčbě lepry, **Crohnovy nemoci**, rakoviny, HIV
- Nemá vliv na tvorbu embrya u hlodavců
→ **důležitost druhových rozdílů !!!!**
- *In utero* expozice thalidomidu ovlivňuje končetiny, uši, oči, genitálie, srdce, ledviny, střevo, CNS = **Thalidomidová embryopatie/syndrom**
- Úmrtnost dětí do 1 roku života – 40%
- Nejcitlivější období na účinky Thalidomidu – **20-36 den po oplodnění**, expozice po této době nemá již zřejmý vliv, před touto dobou = potraty



Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide)

- Přes 90% přeživších vykazuje deformity končetin – redukce, symetrické
 - amélie = celková nepřítomnost končetin
 - fokomelie = výrazné zkrácení končetin
- Postižení očí = katarakty, malé oči, nepřítomnost očí
- Postižení uší = nepřítomnost vnějšího ucha
- CNS – není většinou postižena, nárůst epilepsie a autismu v pozdějším stádiu života



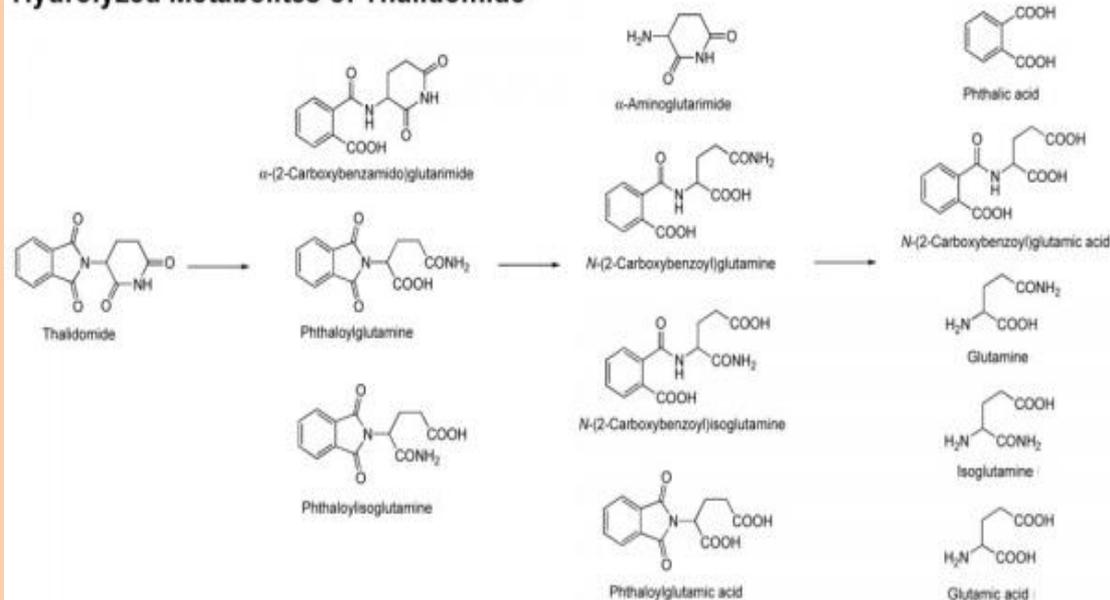
- S(-) – teratogenní

- R(+) – sedativní

- v těle vzájemně přechází jeden v druhý

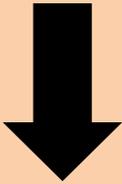
- je hydrolyzován na min. 20 metabolitů a následně je eliminován

Hydrolyzed Metabolites of Thalidomide

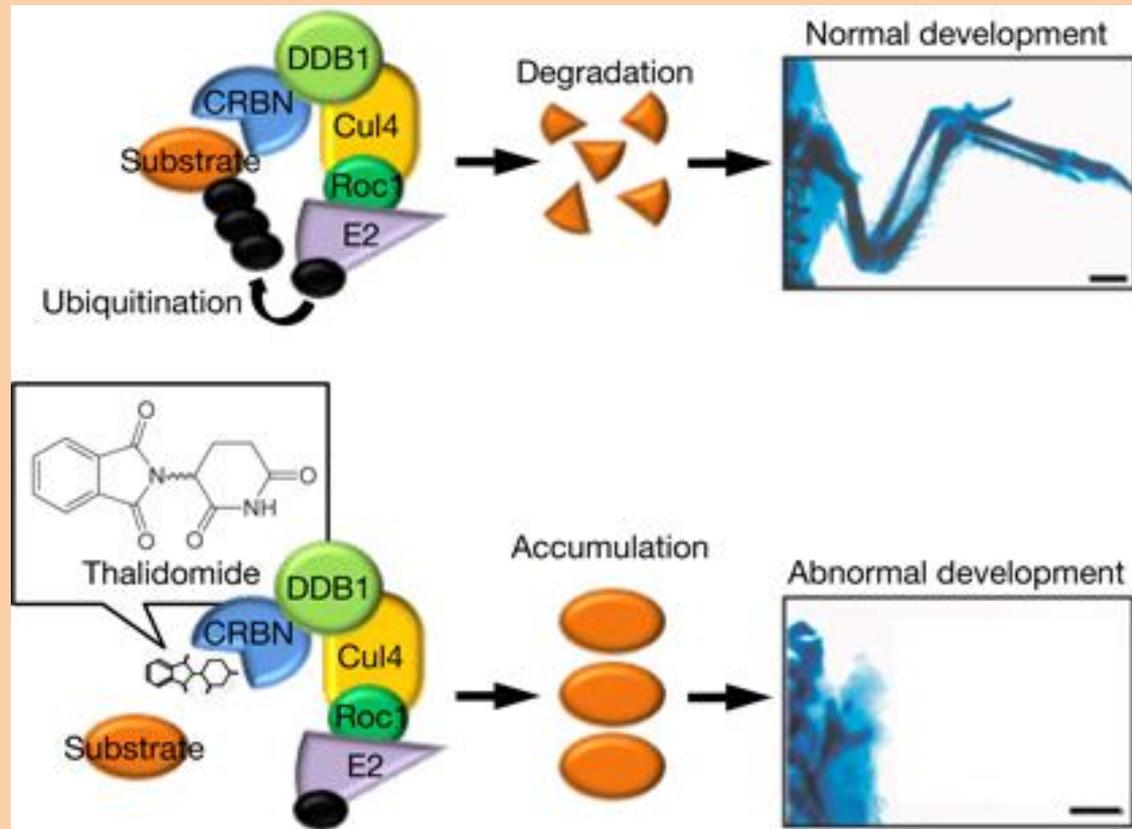


Thalidomid (α -N-[phthalimido] glutarimide)

- 30 modelů působení
- Ovlivňující vývoj končetin = anti-angiogenní !!
- Molekulární cíl = protein cereblon
- **Cereblon** = součást E3 ubikvitinasového komplexu, funkčnost zatím není zcela pochopena
- Thalidomid upreguluje a downreguluje přes 2000 genů včetně markerů tvorby cév a markerů cytoskeletu



V době tvorby tkání a rychlé angiogeneze vede přítomnost thalidomidu k selhání tvorby cév, indukci buněčné smrti u buněk vyžadujících kyslík a nutrienty



Kovy

Hliník

- Toxicita: osteomalacie, anémie, narušení neurologických procesů (akumulace neurofilamentů)
- **Součást antacid**
- Během těhotenství - dyspepsie
- Přítomen jako hydroxid, nerozpustný ve vodě
- Velké dávky a přítomnost dalších složek stravy (laktát, citrát) zvyšují absorpci !!!

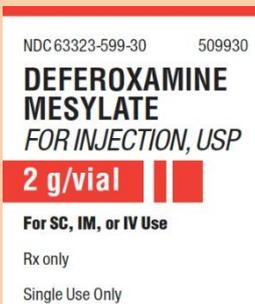


- AlCl_3 – embryotoxický, teratogenní u hlodavců
- $\text{Al}(\text{OH})_3$ – teratogenicita nebyla zjištěna u hlodavců → rozpustnost je klíčová
- Kombinace $\text{Al}(\text{OH})_3$ a kyseliny citronové → opožděná osifikace u plodů myši

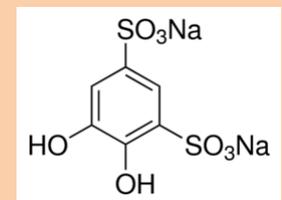


- **Maternální expozice** hliníku může ovlivnit:
 - neurobehaviorální testy
 - zmenšení varlat, snížený početu spermií

Snížení zatížení těla hliníkem – chelatační činidla (desferrioxamin) → neochrání před mateřskou a vývojovou toxicitou



Tiron + GSH → snížení akumulace hliníku

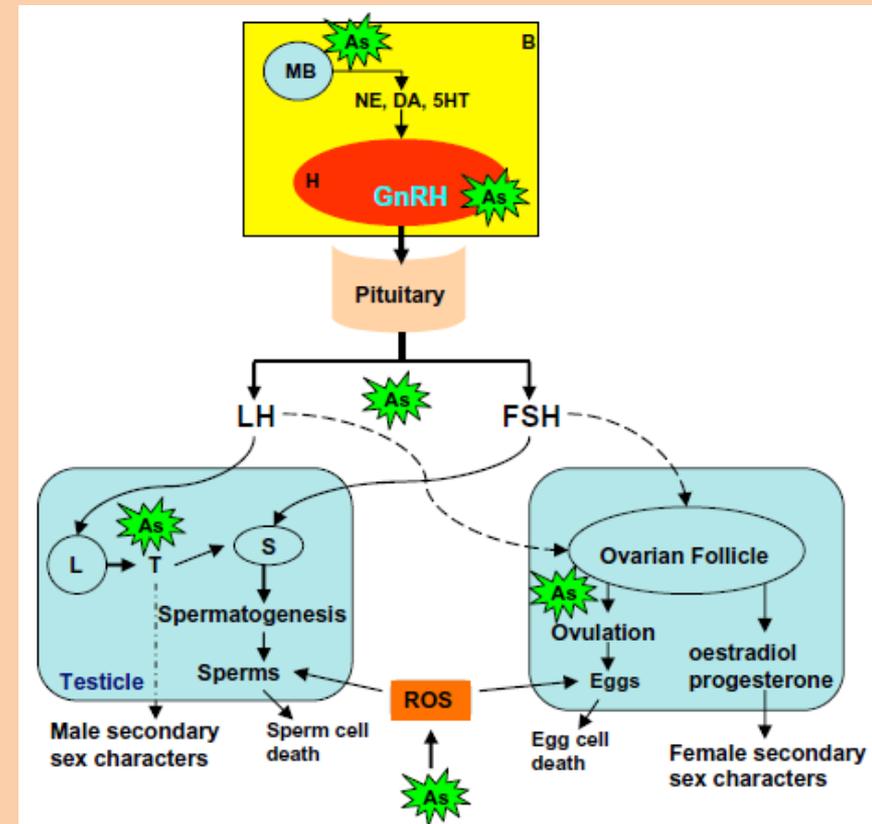


Arsen

- Všechny formy přechází placentární bariérou – As^{3+} nejtoxičtější
- Transportován **aquaglyceroporiny** (AQP7/9) – varlata, ledviny, srdce, nikoliv Placenta !!
- **GLUT1** – transport As - ledviny, játra, BBB, placenta
- **GLUT4** – transport As^{3+} , monomethyl arsenová kyselina
- Fosfátový transportér pro As^{5+}
- Vyvolává oxidační stress – citlivé spermie → nižší počet, vazba na SH skupiny proteinů, As^{5+} - náhrada fosfátu při tvorbě ATP

Muži – nízký počet spermií, neplodnost, abnormální hormonální sekrece – poškození akrosomu

Ženy – potlačení steroidogeneze, degenerace ovárií, folikulů, nárůst meiotických aberací v oocytech, snížení FSH, LH, estradiolu



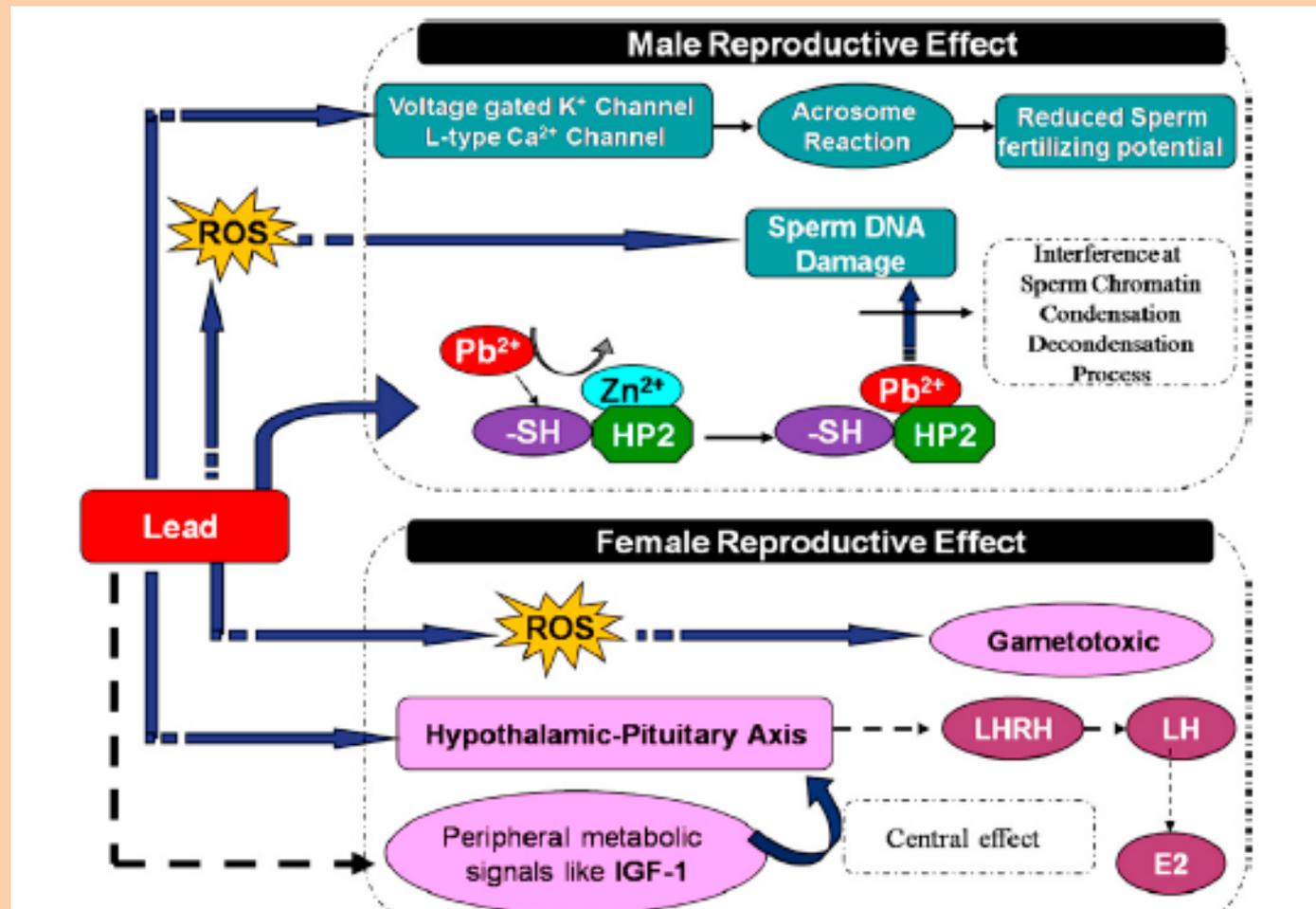
Olovo

Kovy

Muži – snížení kvality spermatu bez vlivu na endokrinní funkci (snížený objem, počet, motilita, seminální hladina zinku) v důsledku oxidativním stresem indukované peroxidace lipidů a DNA

Ženy

- Olovem indukovaná nedostatečnost IGF-1 s následným poklesem v LHRH, LH, estradiolu



Kovy

Mangan

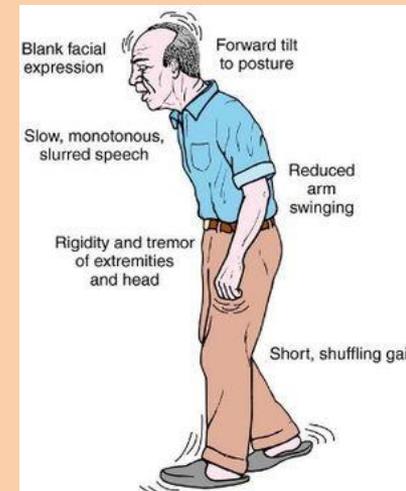


- 12-tý nejčastější v kůře Země
- **Výskyt:** Ve vodě, půdě, zemině - ve formě oxidů, silikátů, uhličitánů
- **Na výrobu:** oceli, baterií, aditiv do paliv, produkci KMnO_4 a fungicidů
- **Potraviny:** ořechy, čaj, zrní, ovoce, zelenina

- Esenciální pro správnou funkci: imunity, homeostázu krevního cukru, reprodukci, trávení
- **Součástí enzymů:** MnSOD, argináza, fosfoenolpyruvát karboxykinázy

- **Mozek citlivý na mangan** – akumulace vede k degeneraci = „manganismus“ – klinicky a morfologicky podobný Parkinsonově chorobě = **psychiatrické poruchy** (dráždivost, agrese, halucinace), **motorické poruchy** (stuhlost, dystónie,)

- Není jen pracovní nemoc, ale vyskytuje se i u **chronického selhání jater** či **deficience Fe**



Mangan

- **reprodukční a vývojové defekty** – narušení plodnosti, libida a zvýšená impotence u pracovníků (expozice po dobu 1-19 let, prach s obsahem $0.97\text{mg}/\text{m}^3$)
 - informace pro ženy nejsou dostupné
- Expozice u dětí vede k poruchám chování, schopnosti se učit a pamatovat

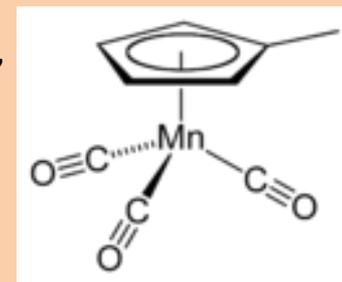
Cesta vstupu potravou – zřídka jen při IV příjmu stravy, při poškození jater

- ovlivněn Fe – deficiencie zvyšuje absorpci (využívá DMT-1)
- pro celkovou populaci odhad z 1984 – $3800\text{mg}/\text{den}$, absorpce 3-5%
- rizikové skupiny - vegetariáni (zrní, zelenina, ořechy)

- **Cesta vstupu vzduchem** (oxidy Mn) – $0.02\text{-}1\ \mu\text{m}$ dolní cesty dýchací, $>5\ \mu\text{m}$ -horní cesty dýchací – solubilizován makrofágy a dle oxidačního stavu transportován do krve (Mn^{3+} - vazba na transferin, Mn^{2+} vazba na albumin)

- exponování lidé v blízkosti továren, oblastí s vysokou hustotou provozu, automobilových pracovníků, taxikářů – spalování **MMT**

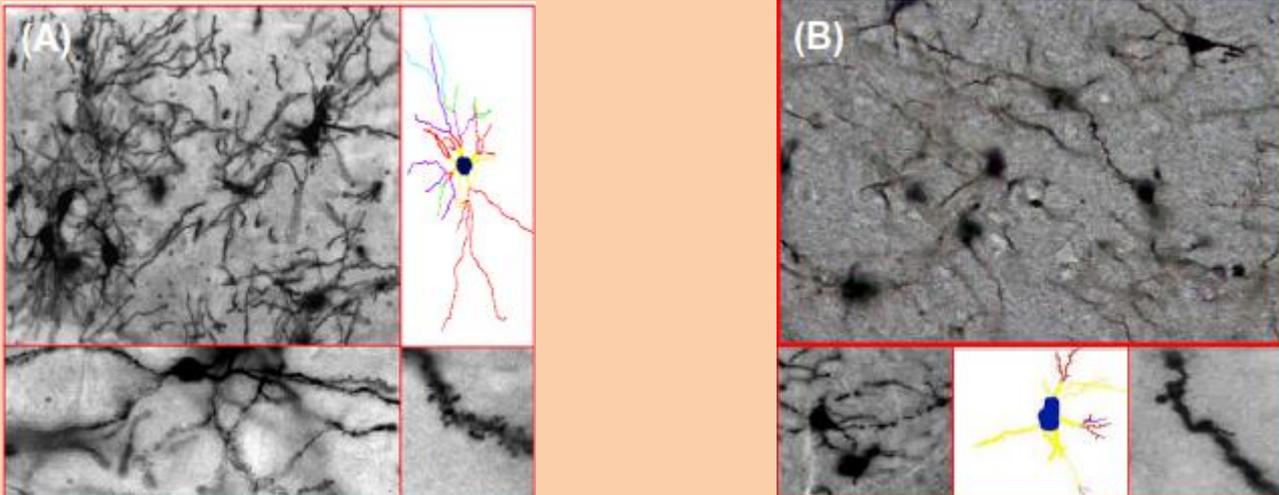
- Eliminace převážně žlučí (cirhóza)



Methylcyclopentadienyl
trikarbonyl mangan

Mangan

- Mn vstupuje do CNS přes mozkomíšní mok
- BBB přestupuje za pomoci **DMT-1**, ZIP8 a receptoru pro transferin
- Hromadí se **bazálních gangliích, frontálním kortexu, hypotalamu**
- V mozku přijímán astrocyty a neurony
- Akumulace Mn v astrocytech pozměňuje uvolňování glutamátu a vede k **excitační neurotoxicitě**
- Hromadí se hlavně v mitochondriích (inhibice komplexů I-IV) → narušení oxidativní fosforylace a **tvorba ROS** – postižení hlavně dopaminergních neuronů



- **Léčba** - chelatací – EDTA – odstraní Mn z krve, nikoliv z mozku
- levodopa

Rtuť (Hg)

Kovy

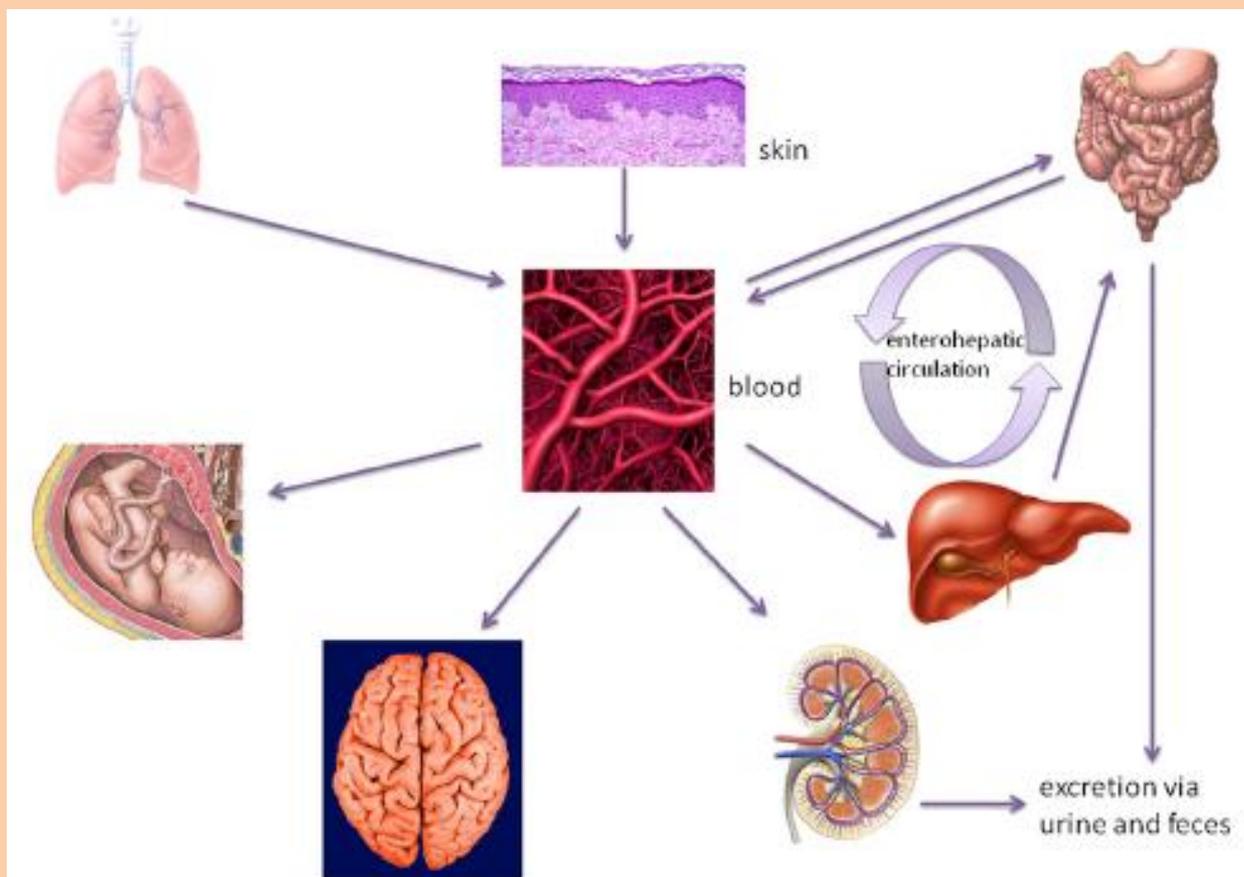
- Expozice převážně z ryb ve formě MeHg
- MeHg absorbován z 90%, poločas vyloučení cca 70 dní
- MeHg – akumulace v ERY – vazba na SH rezidua a beta řetězce Hemoglobinu

MeHg je demethylován v mozku na anorganickou rtuť - hromadí se v astrocytech a mikroglíích

- Eliminace většiny MeHg játry do žluči

Cca 5% MeHg v krvi matky je exkretováno do mléka

- MeHg prostupuje placentou a hromadí se v plodu



Rtuť (Hg)

- **MeHg ovlivňuje převážně vyvíjející se mozek**
- Opožděný nástup symptomů oproti expozici

- U dospělých – MeHg ovlivňuje převážně senzorický a motorický kortex, mozeček

- U *in utero* a postnatální expozice – širší poškození, kortikální atrofie, smrštění bílé hmoty (němost, slepota, retardace, záchvaty) → důsledek nedokonale vyvinuté BBB u novorozenců až do 1 roku života

- MeHg – inhibice glutathion peroxidázy (GPX) s následkem peroxidace lipidů
 - inhibice myelinace
 - inhibice neurotransmise

Léčba – odstranění chelatací – dimerkaptosukcinová kyselina (DMSA) – pro anorganickou rtuť

Kovy

Selen

- Polokov s úzkým rozpětím bezpečnosti
- Deficience v místech s nízkou koncentrací v půdě + nedostatečností vitamínu E
- Výskyt jako seleničitany, selenany, selenidy
- **Absorpce:** hlavně v duodenu; seleničitany pasivní difúzí, selenany kotransportem s Na^+ , selen ve formě AK – aktivní transport



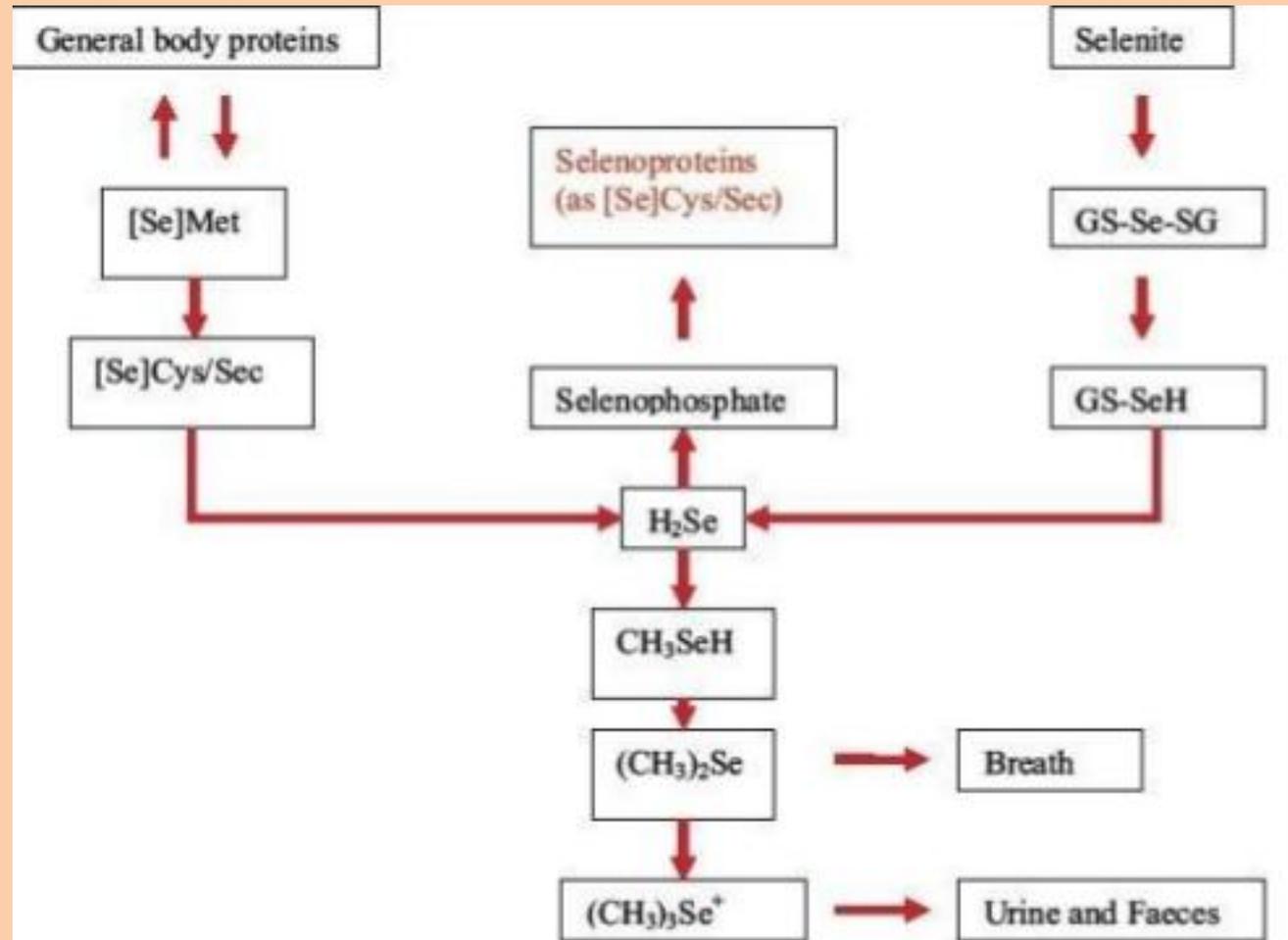
**S
E
L
E
N
I
U
M**

 Crimini Mushrooms	 Eggs	 Garlic
 Broccoli	 Asparagus	 Salmon
 Spinach	 Shitake Mushrooms	 Oats

Selen

- **Distribuce** – závislá na formě: selenomethionin inkorporace do proteinů; nejvíce Se v ledvinách a játrech
- Účinně transportován do plodu přes placentu !!!!
- Přestup do mléka
- **Metabolismus:** v Ery na hydrogen selenid, následně na mono-, di-, trimethyl selenid za pomoci SAM

- **Eliminace:** moč a výkaly, u zvířat s jedním žaludkem eliminace močí převažuje

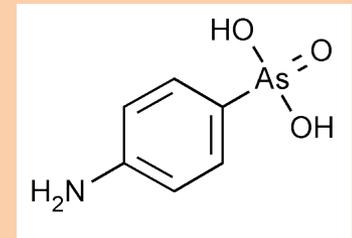


Selen

- **působení:** deplece GSH a SAM, produkce ROS, inkorporace Se do proteinů na místo síry s následkem narušení buněčných funkcí
- **Akutní otrava** 2.2-20mg/kg a více – v závislosti na formě (2-8 mg/kg seleničitanu u přežvýkavců)
- **Příznaky** 8-10 hodin po pozření: česnekový zápach v dechu po methylovaných selenidech, neklid, letargie, svěšené uši, slinění, vodnatý průjem, horečka, pocení, tachykardie
- **Chronická selenóza:** deprese, slabost, anémie, ztráta vlasů, anorexie, smrt
- U zvířat intoxikace vede k potratům, teratogenním účinkům – např. u drůbeže – deformity nohou, křídel, zobáku, očí
- **Varlata jsou specifický cíl pro Se** – podílí se na spermatogenezi a mužské fertilitě
 - deficiencie Se = změna tvaru spermatozoí, bičíku (u potkanů = testikulární atrofie, reversibilní)
 - selenoproteiny I, V, W, K, 15, S – role ve varlatech většinou neznámá

Léčba

- není specifický mechanismus – podpůrná léčba
- vitamin E – krátce po expozici může snížit radikálové poškození
- arsanilová kyselina zvyšuje eliminaci žlučí



- nízkoselenová dieta s vysokým podílem proteinů – léčba chronické selenózy

Slovo závěrem....

Vztah matka a dítě

...vydrží na věky !!!!



Použitá literatura

Gupta Ramesh C.: Reproductive and developmental toxicology, ,
1st ed, 2011

Ji Yeon Son et al: Evaluation of renal toxicity by Combination
exposure to Melamine and Cyanuric acid in Male Sprague-
Dawley Rats, 2014, Toxicological Research