

DZIAŁANIE ŁĄCZNE WYCIĄGU Z TARCZYCY BAJKALSKIEJ I KOENZYMU Q₁₀ W STRESIE OKSYDACYJNYM WYWOŁANYM ZWIĄZKAMI CHROMU

THE COMBINED EFFECT OF SCUTELLARIA BAICALENSIS EXTRACT AND COENZYME Q₁₀ IN OXIDATIVE STRESS INDUCED BY CHROMIUM COMPOUNDS

Ewa Sawicka, Anna Długosz, Dorota Średnicka

*Katedra i Zakład Toksykologii Akademii Medycznej we Wrocławiu
Kierownik Katedry Toksykologii: prof. dr hab. Anna Długosz*

Streszczenie

Wstęp: Coraz powszechniejsze stosowanie antyoksydantów i łączne przyjmowanie różnych typów przeciwutleniaczy zmusza do oceny skutków ich działania łącznego w narażeniu na ksenobiotyki. Tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis*) znajduje zastosowanie w medycynie m.in. z powodu własności antyoksydacyjnych, natomiast koenzym Q₁₀ jest skutecznym, endogennym zmiataczem wolnych rodników. Chrom należy zarówno do niezbędnych mikroelementów jak i czynników toksycznych. Celem pracy była ocena działania łącznego dwóch antyoksydantów w narażeniu na związki chromu.

Materiał i metody: Materiałem do badań była świeża krew pobrana od zdrowych ochotników. Stężenie dialdehydu malonowego (MDA) w krwince czerwonej oznaczono metodą Stocks'a. Badano wpływ działania łącznego koenzymu Q₁₀ i Antoxydu na poziom MDA krwinki czerwonej po ekspozycji na jony chromu III i VI o stężeniu: 0,05; 0,5 oraz 1,0 µg/ml. Antyoksydanty użyto w stężeniach 8,0; 20; 60 i 100 µg/ml.

Wyniki: Zaobserwowano brak istotnego statystycznie efektu koenzymu Q₁₀ na krwinki stymulowane związkami chromu(III) i chromu(VI). Łączne oddziaływanie obu antyoksydantów: Antoxydu i koenzymu Q₁₀ w stosowanych

dawkach, statystycznie istotnie obniżyło poziom MDA krwinek ekspozowanych na jony chromu ($p < 0,001$).

Wnioski: Zastosowanie obu antyoksydantów wykazało synergistyczne działanie, obniżające skutecznie poziom MDA podwyższony po chromie. Łączne oddziaływanie Antoxydu i koenzymu Q₁₀ ze związkami chromu nie spowodowały wystąpienia toksycznych interakcji.

Słowa kluczowe: tarczycza bajkalska (*Scutellaria baicalensis*), koenzym Q₁₀, peroksydacja lipidowa, związki chromu, interakcje.

Abstract

Background: The common use of antioxidants and its joint application brings the question whether they are useful in oxidative stress induced by the chemicals or whether they cause harmful interaction. Both *Scutellaria baicalensis* and CoQ₁₀ are known as antioxidants, however one exogenous, the second endogenous. Chromium belongs equal to essential microelements and toxic factors. Therefore the aim of work was the evaluation joint effect of two examined antioxidants in exposure to chromium compounds.

Nadesłano: 15.09.2009

Zatwierdzono do druku: 12.03.2010

Materials and methods: The material was fresh blood obtained from healthy volunteers. The concentration of malondialdehyde (MDA) in erythrocytes was evaluated using Stock's method. The activity of mixture of Antoxyd and coenzyme Q₁₀ was tested after exposure to chromium III and VI at concentrations: 0,05; 0,5 and 1,0 µg/ml. Antioxidants were used in concentrations : 8,0; 20; 60 and 100 µg/ml.

Results: The influence of coenzyme Q₁₀ in exposure to chromium III and chromium VI was statistically insignificant, but CoQ₁₀ given together with Antoxyd in all used

concentration statistically significant decreased the level of MDA in erythrocytes exposed to chromium compounds ($p < 0,001$).

Conclusions: Application of both antioxidants has exerted synergistic action lowering MDA level, which was elevated after chromium. No harmful interactions in the examined sample between antioxidants and chromium ions were noted.

Key words: *Scutellaria baicalensis*, coenzyme Q₁₀, lipid peroxidation, chromium compounds, interactions.

Wstęp

Chrom jest pierwiastkiem, który należy zarówno do czynników niezbędnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu jak i toksycznych. Jest czynnikiem tolerancji glukozy, ale może też działać rakotwórczo, mutagennie, embriotoksycznie czy teratogennie. Metal ten, szeroko rozpowszechniony w przyrodzie, występuje na kilku stopniach utlenienia, najczęściej w postaci chromu sześciowartościowego i trójwartościowego [1]. Na podstawie badań epidemiologicznych i eksperymentalnych Cr(VI) został sklasyfikowany przez Międzynarodową Agencję IARC jako karcynogen o udowodnionej toksyczności dla ludzi [2], a równocześnie sole chromu(III) znalazły zastosowanie jako suplementy diety w kuracjach odchudzających. Działanie toksyczne chromu(VI) jest ściśle związane z jego utleniającymi właściwościami. Ulega on w organizmie redukcji do Cr(III). Proces ten przebiegający wewnątrz komórek, przy udziale enzymów NADPH-zależnych prowadzi do powstania formy Cr(III), określanej też mianem końcowego karcynogenu, bowiem może tworzyć trwałe kompleksy z różnorodnymi cząsteczkami, m.in. z DNA [3].

Istnieje powiązanie pomiędzy ekspozycją na chrom i podwyższonym poziomem produktów peroksydacji lipidów. Wykazano, że Cr(VI) indukował stres oksydacyjny w makrofagach poprzez produkcję reaktywnych form tlenu (RFT), w tym rodnika ponadtlenkowego, tlenu singletowego czy rodnika hydroksylowego [4]. Pomimo tego, że związki Cr(III) są nawet 1000 razy mniej toksyczne od Cr(VI), to są również szkodliwe dla organizmu w wysokich stężeniach [5]. Zaobserwowano uszkodzenie DNA czy nefrotoksyczność żywnościowych suplementów zawierających tę postać chromu [6]. W wyniku własnych doświadczeń stwierdzono, że zarówno chrom(III) jak i chrom(VI) stymulują peroksydację lipidową w erytrocytach krwi ludzkiej. Badania własne wykazały także, że ekstrakt z tarczycy bajkalskiej skutecznie hamuje tę peroksydację [7]. Interesującym wydało się zbadanie czy również koenzym Q₁₀ działa korzystnie w stresie oksy-

dacyjnym wywołanym jonami Cr(III) i Cr(VI), a także jak skuteczna jest mieszanina antyoksydantów (CoQ₁₀ + Antoksyd) i czy nie dochodzi do toksycznych interakcji. Wcześniejsze badania wykazały synergizm obu antyoksydantów w stresie oksydacyjnym wywołanym nadtlenkiem kumenu [8]. Ciekawa wydała się ocena działania łącznego koenzymu Q₁₀ i wyciągu z tarczycy bajkalskiej w warunkach wzmożonej oksydacji indukowanej Cr(III) i Cr(VI).

Koenzym Q₁₀ (CoQ₁₀) jest naturalnym związkiem, który posiada zdolność wygaszania rodników nadtlenu lipidowych (LOO•), także regeneracji witaminy E z rodników α -tokoferylowych. Jako ruchomy przenośnik elektronów z flawoprotein na cytochromy, aktywnie uczestniczy w istotnym dla życia procesie wytwarzania związków wysokoenergetycznych, które odgrywają również ważną rolę w detoksykacji [9]. Wiele danych wskazuje na korzystne, antyoksydacyjne własności flawonoidów zawartych w wyciągu z tarczycy bajkalskiej, bajkaliny i bajkaleiny [10]. Mechanizm działania obu antyoksydantów jest odmienny, a działanie łączne nieznane, szczególnie w stresie indukowanym ksenobiotykami. Celowe jest więc zbadanie skutków ich działania łącznego w ekspozycji na związki chromu.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiła świeża krew pobrana na cytrynian sodu od zdrowych ochotników. Badania wykonano na modelu *in vitro* w zawiesinie erytrocytów.

Krew (materiał resztkowy z Kliniki Chirurgii Akademickiego Szpitala we Wrocławiu) poddano odwirowaniu, po czym osocze odrzucono. Krwinki czerwone przemyto trzykrotnie roztworem soli fizjologicznej (0,9% NaCl), a następnie przygotowano 10% zawiesinę krwinek w buforze PBS o pH = 7,4 (Phosphate Buffered Saline – buforowany roztwór soli fizjologicznej bez jonów wapnia i magnezu). Poziom hemoglobiny (Hb) w zawiesinie krwinkowej oznaczono metodą Drabkina z wykorzystaniem komercyjnego zestawu [11].

W badaniach zastosowano wodne roztwory soli chromu(III) (CrCl_3) oraz chromu(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$) o stężeniach: 0,05; 0,5; 1 $\mu\text{g/ml}$. Działanie łączne CoQ_{10} oraz Antoxydu na krwinki czerwone ekspozowane na jony Cr(III) i Cr(VI) oceniono przez podawanie każdego antyoksydanta w tych samych stężeniach (np. 8 $\mu\text{g/ml}$ CoQ_{10} i 8 $\mu\text{g/ml}$ Antoxydu). Do badań używano następujących antyoksydantów:

1) Antoxyd – preparat uzyskany według specjalnej procedury, przez firmę Bioactive Products Factory (BPF) w Polsce, metodą krystalizacji wodno-alkoholowego wyciągu z korzenia tarczycy bajkalskiej i standaryzowany na bajkalinę. Preparat rozpuszczano w buforze TRIS-HCl o $\text{pH} = 7,4$ i użyto w stężeniach: 8, 20 i 60 $\mu\text{g/ml}$,

2) Koenzym Q_{10} (Q_{10} 904944, JEMO PHARM) rozpuszczono w DMSO i stosowano w stężeniach: 8, 20, 60 oraz 100 $\mu\text{g/ml}$.

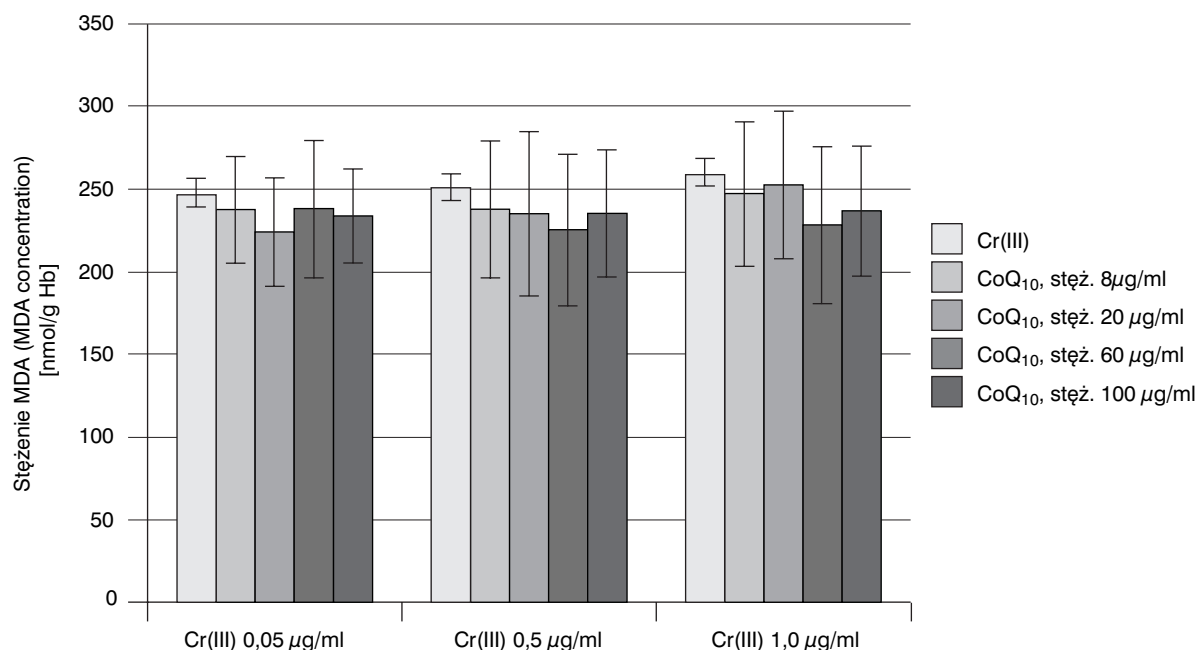
Stres oksydacyjny oceniano mierząc stopień peroksydacji lipidowej przez spektrofotometryczne oznaczenie ilości wytwarzanego dialdehydu malonowego (MDA) metodą Stocksa i wyrażono w nmol/g hemoglobiny [7, 12]. Dla każdego ze stężeń wykonano co najmniej 10 oznaczeń.

Analiza statystyczna

Wyniki oceniono statystycznie za pomocą programu Statistica PL 7,1. Zmienność rozkładu sprawdzono testem Lilleforsa. Istotność różnic badanych zmiennych o rozkładzie normalnym oceniono z wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA i testu post-hoc RIR Tukeya. Różnice uznawano za istotne statystycznie przy $p < 0,05$.

Wyniki badań

Badając oddziaływanie CoQ_{10} w stężeniach 8, 20, 60 oraz 100 $\mu\text{g/ml}$ na poziom MDA w erytrocytach stymulowanych jonami Cr(III) i Cr(VI) w stężeniach 0,05; 0,5; 1 $\mu\text{g/ml}$ wykonano 6 doświadczeń, w każdym z nich wykonując od 10 do 16 badań – dla każdego ze stężeń CoQ_{10} i jonów Cr(III) lub Cr(VI) . Stwierdzono brak istotnego statystycznie działania CoQ_{10} we wszystkich 4 stężeniach na podwyższoną peroksydację krwinki czerwonej po ekspozycji na jony Cr(III) (ryc.1). Podobny nieistotny statystycznie efekt CoQ_{10} zaobserwowano przy ekspozycji krwinki na jony Cr(VI) . Z badań wynika więc, że CoQ_{10} nie obniża podwyższonej przez jony Cr(III) czy Cr(VI) peroksydacji lipidowej w erytrocytach krwi ludzkiej.



Rycina 1. Wpływ CoQ_{10} w stężeniach 8,0; 20,0; 60,0 i 100,0 $\mu\text{g/ml}$ na poziom MDA w erytrocytach stymulowanych Cr(III) w dawkach 0,05; 0,5 i 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

Figure 1. Effect of CoQ_{10} in concentrations: 8,0; 20,0; 60,0 and 100,0 $\mu\text{g/ml}$ on MDA level in erythrocytes stimulated by Cr(III) in concentrations: 0,05; 0,5 and 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

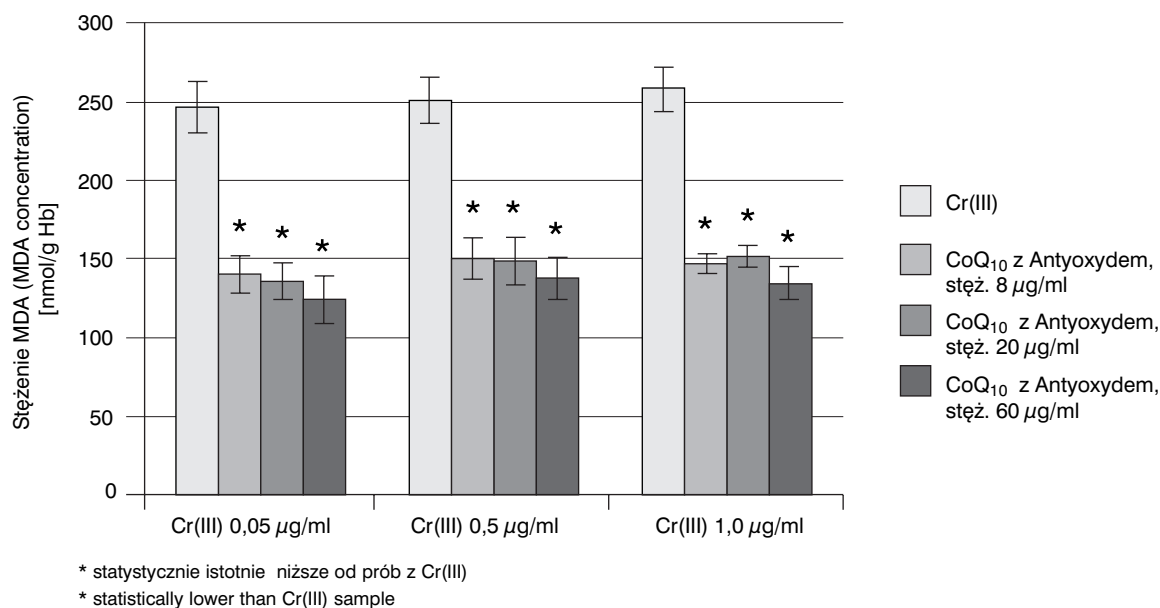
Natomiast stężenie MDA w krwince po stymulacji Cr(III) w trzech stężeniach: 0,05; 0,5 i 1 $\mu\text{g/ml}$ obniżyło się znacznie, kiedy zastosowano mieszaninę Antoxydu i CoQ_{10} we wszystkich badanych daw-

kach: 8, 20 i 60 $\mu\text{g/ml}$ (ryc. 2). Spadek stężenia był bardzo znaczący np. z 246,05 nmol/g hemoglobiny do 140,2; 135,7 i 124,22 nmol/g hemoglobiny odpowiednio dla stężeń mieszaniny 8; 20 i 60 $\mu\text{g/ml}$

($p < 0,001$). Największy spadek MDA osiągnięto dla mieszaniny antyoksydantów w dawce największej tzn. 60 $\mu\text{g/ml}$, osiągając dla wszystkich trzech badanych stężeń Cr(III) bardzo wysoką istotność statystyczną ($p < 0,001$). Najskuteczniej jednak od-

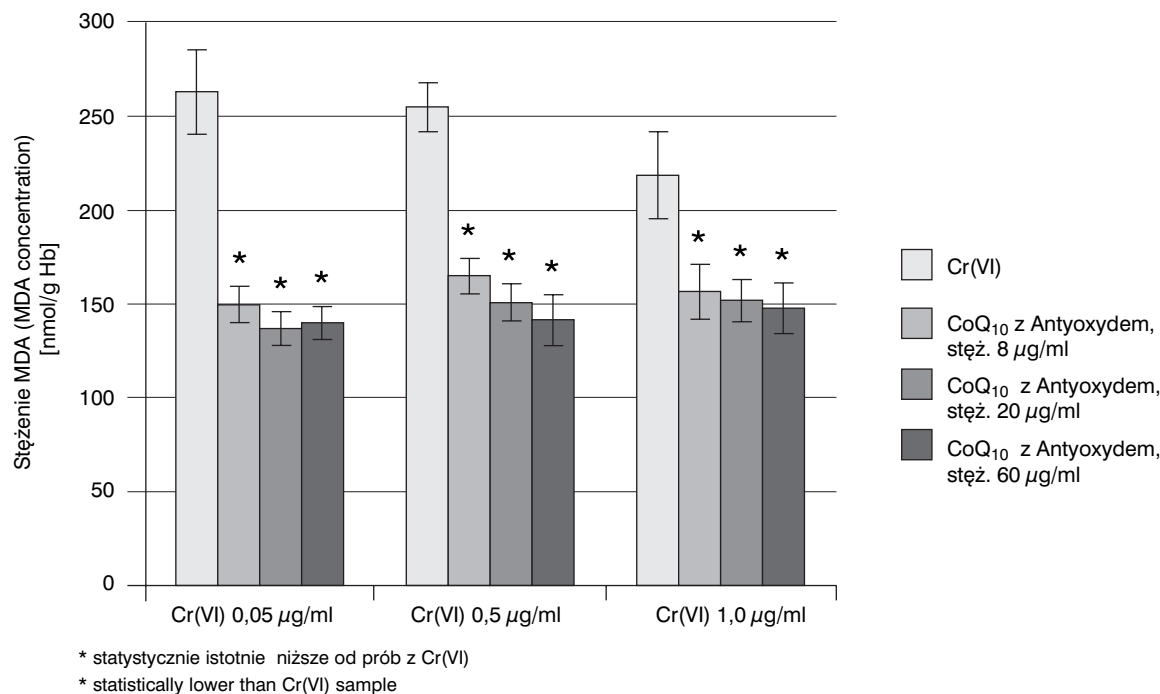
działała mieszanina gdy krwinki były narażone na najmniejsze stężenie Cr(III) tzn. 0,05 $\mu\text{g/ml}$ (ryc. 2)

Również w przypadku ekspozycji na jony Cr(VI) zaobserwowano silne, protekcyjne oddziaływanie



Rycina 2. Wpływ działania łącznego CoQ₁₀ i Antoxydu w dawkach 8,0; 20,0; 60,0 $\mu\text{g/ml}$ na poziom MDA w erytrocytach stymulowanych Cr(III) w dawkach 0,05; 0,5 i 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

Figure 2. Combined effect of CoQ₁₀ and Antoxyd in doses : 8,0; 20,0 and 60,0 $\mu\text{g/ml}$ on MDA level in erythrocytes stimulated by Cr(III) in concentrations : 0,05; 0,5 and 1,0 $\mu\text{g/ml}$.



Rycina 3. Wpływ działania łącznego CoQ₁₀ i Antoxydu w dawkach 8,0; 20,0; 60,0 $\mu\text{g/ml}$ na poziom MDA w erytrocytach stymulowanych Cr(VI) w dawkach 0,05; 0,5 i 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

Figure 3. Combined effect of CoQ₁₀ and Antoxyd in doses: 8,0; 20,0 and 60,0 $\mu\text{g/ml}$ on MDA level in erythrocytes stimulated by Cr(VI) in concentrations: 0,05; 0,5 and 1,0 $\mu\text{g/ml}$.

mieszaniny CoQ₁₀ i Antoxydu. Zaobserwowano obniżenie peroksydacji dla wszystkich 3 badanych stężeń antyoksydantów 8; 20 i 60 µg/ml przy ekspozycji na wszystkie trzy badane dawki Cr (VI) ($p < 0,001$) (ryc. 3). Podobnie jak w powyższym badaniu dla Cr(III), również dla Cr(VI) najbardziej znaczący spadek stężenia MDA zaobserwowano przy ekspozycji na najmniejszą dawkę jonów chromu np. z 263,23 nmol/g hemoglobiny do 149,5; 136,9 i 136,8 nmol/g hemoglobiny odpowiednio dla stężeń mieszaniny 8; 20 i 60 µg/ml ($p < 0,001$). Najmniej skutecznie wpłynęła dawka 8,0 µg/ml mieszaniny przy ekspozycji na największe stężenie Cr(VI) – 1,0 µg/ml np. z 218,5 do 156,8 nmol/g hemoglobiny, jednak i w tym przypadku osiągnięto wysoką istotność statystyczną $p < 0,001$ (ryc. 3).

Dyskusja

W przewlekłym stresie oksydacyjnym może dochodzić do obniżania zawartości antyoksydantów i wskazana jest wtedy suplementacja. Jednak jeśli stres oksydacyjny wywołany jest przez chemiczny czynnik toksyczny powstaje pytanie czy nie dojdzie do interakcji między ksenobiotykiem a antyoksydantem.

W pracy oceniono, czy łączne stosowanie CoQ₁₀ i Antoxydu standaryzowanego na bajkalinę, przy ekspozycji na jony chromu – Cr(III) i Cr(VI) daje efekty korzystne, czy może szkodliwe interakcje. Badano także skuteczność CoQ₁₀ w stresie oksydacyjnym wywołanym związkami chromu. Coraz powszechniejsze stosowanie antyoksydantów jako suplementów diety oraz narażenie na ksenobiotyki zmusza do oceny ich działania łącznego.

Stres oksydacyjny może być wywołany przez różne czynniki, szczególnie przez katalizujące reakcję Fentona metale. Vandana wykazał, że jony Cr(VI) indukowały cytotoksyczność i stres oksydacyjny w makrofagach. Witamina C i E oraz beta karoten hamowały oksydacyjne uszkodzenia wywołane przez chrom [4]. Natomiast Wataha badał efekt jonów tego metalu na poziom glutationu (GSH) w ludzkich monocytach, i wykazał spadek wskaźnika GSH-GSSG w tych komórkach [13]. Również po ekspozycji pracowników na jony Cr(VI) następowało obniżenie glutationu we krwi, co świadczy o tym, że GSH może być zaangażowany w ochronę komórek przed indukowaną chromem toksycznością [3]. Jony chromu występują na kilku stopniach utlenienia, najczęściej na +2, +3 i +6. Różnice w transporcie błonowym pomiędzy Cr(VI) i Cr(III) wyjaśniają zróżnicowane indukowanie oksydacyjnych uszkodzeń na poziomie komórki i wskazują na Cr(VI) jako formę najbardziej niebezpieczną dla człowieka [14]. Natomiast Cr(III), uważany za naturalny, względnie nietoksyczny, jednak po redukcji do

Cr(II) przy udziale biologicznych reduktorów np. L-cysteina czy NADH i po reakcji z nadtlakiem wodoru może generować rodniki hydroksylowe [15]. Wykazano, że Cr(III) w stężeniach 5–20 µM nie wywoływał stresu oksydacyjnego w komórkach, z kolei wysokie stężenia Cr(III) w ludzkich fibroblastach indukowały toksyczne efekty, co tłumaczono zdolnością tej formy chromu do inaktywacji metaloenzymów chroniących przed stresem oksydacyjnym [16]. Proces redukcji jonów chromu generuje RFT. Dominująca forma chromu – jon $[CrO_4]^{2-}$ ulega redukcji do Cr(III) poprzez niestabilne kinetycznie, krótkotrwałe formy np. Cr(V) czy Cr(IV) [1]. Forma chromu na piątym stopniu utlenienia również może być źródłem rodników OH, bowiem w reakcji z nadtlakiem wodoru generuje ten najbardziej agresywny rodnik tlenowy. Podsumowując, z narażeniem na chrom wiąże się nadprodukcja zarówno anionorodnika ponadtlenkowego, tlenu singletowego jak i rodnika hydroksylowego.

Brak jest doniesień na temat roli koenzymu Q₁₀ w stresie oksydacyjnym wywołanym związkami chromu. Wykazano, że koenzym Q₁₀ przejawiał działanie ochronne przy narażeniu na czterochlorek węgla, glikol etylenowy czy styren [17]. Nie badano efektu flawonoidów zawartych w Tarczycy bajkalskiej w ekspozycji na chrom. Pierwsze nasze doświadczenia wykazały skuteczność Antoxydu w hamowaniu peroksydacji lipidowej w erytrocytach krwi ludzkiej narażonych na sole chromu [7]. W badaniach *in vitro* i *in vivo* potwierdzono natomiast protekcyjne działanie pochodnej flawonu-bajkaleiny na toksyczność benzo(a)pirenu i aflatoksyny B [18]. Właściwości antyoksydacyjne CoQ₁₀ mogą wynikać z bezpośredniej reakcji z wolnymi rodnikami tlenowymi i ich neutralizacji. Inny mechanizm to hamowanie produkcji rodników LOO• i przerywanie procesu lipidowej peroksydacji [9]. Jednak w prezentowanych badaniach, CoQ₁₀ w zastosowanych dawkach nie hamował peroksydacji indukowanej zarówno Cr(VI) jak i Cr(III). Silne własności utleniające Cr(VI) mogą powodować przesunięcie równowagi między formą zredukowaną, a utlenioną koenzymu Q₁₀ w kierunku przewagi formy utlenionej, która nie ma właściwości zmiatacza rodników. Być może taki jest mechanizm nieskuteczności koenzymu Q₁₀ wobec peroksydacji lipidowej wywołanej chromem.

Mechanizm działania antyoksydacyjnego flawonoidów jest związany ze zdolnością do odrywania protonu z grupy fenolowej. Powstały w ten sposób rodnik może wygaszać inne rodniki. Aktywność bajkaleiny wydaje się być najbardziej związana ze zmiataniem rodników ponadtlenkowych, które są również generowane przez chrom. Zdaniem Gao wytłumaczenie protekcyjnego działania bajkaleiny może być dwukierunkowe. Po pierwsze zmiatanie

wolnych rodników powstałych z rozpadu H₂O₂, a po drugie oddziaływanie jako inhibitor lipoksygenazy czy fosfolipazy C i w ten sposób ochrona błon komórkowych przed uszkodzeniami indukowanymi przez H₂O₂. Duże znaczenie dla korzystnego działania Antoxydu w stresie oksydacyjnym wywołanym jonami Cr(III) i Cr(VI) wydaje się mieć również fakt, że zawarte w nim flawonoidy są uznawane za silne chelatory jonów metali. Jony chromu mogą wchodzić zamiast żelaza i miedzi w szlak reakcji Fentona i indukować rodniki hydroksylowe, a bajkalina dzięki zdolności chelatowania jonów metali, być może także chromu, może stanowić ochronę przed stresem oksydacyjnym, zapobiegając toksycznemu działaniu chromu [19, 20].

Wspólne oddziaływanie CoQ₁₀ i Antoxydu we wcześniejszych badaniach wykazało korzystne, synergistyczne działanie, hamując peroksydację w krwince stymulowanej nadtlenkiem kumenu. Również w bieżących badaniach z chromem zanotowano podobny efekt synergistycznego oddziaływanie antyoksydantów. Nieefektywny CoQ₁₀, w działaniu łącznym z Antoxydem, obniżał jednak stężenie MDA indukowane chromem. Można przypuszczać, że szlaki przemian antyoksydantów wzajemnie się uzupełniają, co skutkuje wzmocnieniem ich działania. Otrzymane wyniki sugerują, że stosowanie skojarzone obu antyoksydantów w zapobieganiu stresu oksydacyjnego indukowanego Cr(III) i Cr(VI) jest bezpieczne. Łączne oddziaływanie Antoxydu i CoQ₁₀ nie spowodowały bowiem wystąpienia toksycznych interakcji w toku przeprowadzonych badań *in vitro*.

Wnioski

1. Koenzym Q₁₀ w stężeniach 8; 20, 60 i 100 µg/ml nie obniżał wzmózonej peroksydacji lipidowej indukowanej jonami Cr(III) i Cr(VI).
2. Koenzym Q₁₀ podany łącznie z Antoxydem w dawce 8; 20 i 60 µg/ml wykazuje działanie synergistyczne, obniżając istotnie statystycznie wzmózoną peroksydację lipidową po ekspozycji na jony chromu (III) i (VI).
3. Zarówno w oddziaływaniu samego CoQ₁₀ jak i łącznym CoQ₁₀ i Antoxydu na krwinki stymulowane Cr(III) i Cr(VI) nie wystąpiły niekorzystne interakcje.

Wykaz piśmiennictwa

1. Bagchi D., Bagchi M., Stohs S.J.: Chromium (VI)-induced oxidative stress, apoptotic cell death and modulation of p53 tumor suppressor gene. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2001; 222: 149-158.
2. Seńczuk W.: Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005.
3. Goulart M., Batoreu M.C., Rodrigues A.S. I wsp.: Lipoperoxidation products and thiol antioxidants in chromium expo-

- sed workers. *Mutagenesis* 2005; 20: 311-315.
4. Vandana S., Ram S., Ilavazhagan M. I wsp. Comparative cytoprotective activity of vitamin C, E and beta-carotene against chromium induced oxidative stress in murine macrophages. *Biomed Pharmacother* 2006; 6: 71-76.
5. Biedermann K.A., Landolph J.R.: Role of valence state and solubility of chromium compounds on induction of cytotoxicity, mutagenesis and anchorage independence in diploid human fibroblasts. *Cancer Res* 1990; 50: 7835-7842.
6. Speetjens J.K., Collins R.A., Vincent J.B. i wsp.: The nutritional supplement chromium (III) tris(piccolinate) cleaves DNA. *Chem Res Toxicol* 1999, 12:483-487.
7. Sawicka E., Średnicka D., Długosz A.: Scutellaria baicalensis inhibits lipid peroxidation caused by chromium in human erythrocytes. *Adv Clin Exp Med* 2008; 17: 539-544.
8. Sawicka E., Długosz A., Roszkowska A.: Synergistyczne działanie wyciągu z tarczycy bajkalskiej i koenzymu Q10. *Brom Chemia Toksykol* 2009, 1.
9. Bentinger M, Brismar K, Dallner G.: The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion* 2007; 7(Suppl 1): S41-50.
10. Cheng PY., Lee YM., Wu YS. i wsp.: Protective effect of baicalin against endotoxic shock in rats in vivo and in vitro. *Biochem Pharmacol* 2007; 73: 793-804.
11. Gawlik M: Zastosowanie modelu krwinki czerwonej człowieka do badania właściwości antyoksydacyjnych związków zawartych w wodnych ekstraktach produktów spożywczych na przykładzie herbaty. *Brom Chem Toksykol* 2004, XXXVII, 4, 311-316.
12. Stocks J, Offerman EL: Model c.b., Dormandy t.L.; the susceptibility to autooxidation of human red cell lipids in health and disease. *Br J Haematol* 1972, 23, 713-724.
13. Wataha JC., Lewis JB., Lockwood PE. i wsp. Effect of dental metal ion on glutathione levels In THP-1 human monocytes. *J Oral Rehabil* 2000; 27: 508-516.
14. Jun F., Xiang L., Yue C. i wsp.: Oxidative stress as a component of chromium-induced cytotoxicity in rat calvarial osteoblasts. *Cell Biol Toxicol* 2008; 24:201-212.
15. Kalahasthi RB, Raghavendra RRH, Krihna MRB, Karuna KM: Effect of chromium (VI) on the status of plasma lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in chromium plating workers. *Chem Biol Interact* 2006; 164, 3: 192-199.
16. Messer RLW., Doeller JE, Kraus DW. i wsp.: An investigation of fibroblast mitochondria enzyme activity and respiration in response to metal ions released from dental alloys. *J Biomed Mater Res* 2000; 50: 598-604.
17. Długosz A., Sawicka E., Marchewka Z.: Styrene and ethylene glycol have a synergetic effect on lipid peroxidation that is better protected than repaired by CoQ10. *Toxicol in Vitro* 2005;19:581-588.
18. Ueng Y.F, Shyu CC, Liu TY I wsp.: Protective effect of baicalin and wogonin against benzo[a]pyrene and aflatoxin B(1)-induced genotoxicity. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 1653-1660.
19. Gao Z, Huang K, Xu H: Protective effect of flavonoids in the roots of Scutellaria baicalensis Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. *Pharmacol Res* 2001; 43: 173-179.
20. Kalahasthi RB., Raghavendra RRH., Krihna MRB. i wsp.: Effect of chromium (VI) on the status of plasma lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzymes in chromium plating workers. *Chem Biol Interact* 2006, 164, 3, 192-199.

Adres do korespondencji:

Dr Ewa Sawicka

53-417 Wrocław, ul. Traugutta 57/59

tel./fax +48 713 444 4375