

**Е.М. Білецька,
Н.М. Онул,
В.В. Калінічева**

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА БІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЦИНКУ В ОРГАНІЧНІЙ ТА НЕОРГАНІЧНІЙ ФОРМІ НА ОСТЕОТРОПНІСТЬ СВИНЦЮ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ УМОВАХ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра загальної гігієни
(зав. – д. мед. н., проф. Е.М. Білецька)
пл. Соборна, 4, Дніпро, 49000, Україна
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»
Department of General Hygiene
Soborna Sq., 4, Dnipro, 49000, Ukraine
e-mail: enbelitska@ukr.net

Ключові слова: цинк, свинець, кальцій, остеопороз, кістка
Key words: zinc, plumbum, calcium, osteoporosis, bone

Реферат. Сравнительная оценка биопротекторного действия цинка в органической и неорганической форме на остеотропность свинца в экспериментальных условиях. Белецкая Э.Н., Онул Н.М., Калиничева В.В. Химическая агрессия техногенного загрязнения окружающей среды, по мнению специалистов, является ведущим фактором риска для популяционного здоровья населения. Систематическое поступление контаминантов в смежные жизнеобеспечивающие среды – воздух, воду, растительные и животные пищевые продукты за прямыми и опосредованными миграционными цепями, создает и комплексное, и комбинированное их влияние на организм. При этом следует отметить, что именно химический фактор, с одной стороны, является наименее изученным в этом отношении, с другой стороны он представляет наиболее существенную и резко возрастающую экологическую угрозу для здоровья человека. В организме человека костная ткань имеет наибольшие кумулятивные свойства по отношению ко многим ксенобиотикам, в частности к группе тяжелых металлов, среди которых свинец является лидером по степени родства к костной ткани. В связи с этим целью является экспериментальное исследование особенностей влияния различных форм цинка на содержание кальция в костной ткани при свинцовой интоксикации. В результате проведенных исследований установлено, что низкодозовое влияние свинца в условиях подострого опыта обуславливает достоверное уменьшение содержания кальция в костной ткани на 28% в сравнении с аналогичными данными контрольной группы животных, что снижает ее плотность и становится фактором риска развития остеопений и остеопорозных состояний организма. Комбинированное воздействие свинца и органических и неорганических форм цинка достоверно увеличивает содержание кальция на 16,43% и 22,04% соответственно, по сравнению со свинцовой группой, что позволяет предположить протекторные свойства цинка при свинцовой интоксикации за счет эффекта биоантагонизма. При изолированном введении органических и неорганических форм цинка содержание кальция в костной ткани увеличивается в 1,4 и 2,04 раза соответственно по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты подтверждают остеопротекторность цинка, особенно органических его форм, при свинцовой интоксикации и дают основание считать, что в системе «свинец – цинк» формируется эффект биологического антагонизма.

Abstract. Comparative evaluation of bioprotective action of zinc in organic and inorganic form on osteotropism of lead in experimental conditions. Biletska E.M., Onul N.M., Kalinicheva V.V. Chemical aggression of technogenic pollution of the environment, according to experts, is the leading risk factor for population health. A systematic entry of contaminants in the related life-supporting environments – air, water, plant and animal food products by direct and indirect migration chains creates both integrated and combined effect on the body. It should be noted that a chemical factor, on the one hand, is the least studied in this respect, on the other hand it represents the most significant and rapidly growing environmental threat to human health. In the human body bone tissue has the highest cumulative properties against many xenobiotics, in particular to heavy metals, among which lead is the leader in relationship to the bone tissue. In this regard, the goal is to study peculiarities of different forms of zinc on calcium content in bone tissue in lead intoxication. As a result of researches it is established that low dosed effect of lead during subacute experience causes a significant decrease of calcium content in the bone tissue by 28% in comparison with those of control group of animals, this reduces its density and becomes a risk factor for the development of osteopenic and osteoporotic state of the organism. Combined effect of lead and organic and inorganic forms of zinc reliably increases calcium content by 16.43% and 22.04% respectively, as compared with lead group, suggesting protective properties of zinc in lead intoxication due to the effect of bioantagonism. In the isolated introduction of organic and inorganic forms of zinc, calcium content in the bone tissue increases by 1.4 and 2.04 times respectively, as compared with the control group. The obtained results confirm osteoprotective action of zinc, particularly of organic forms in lead intoxication and give reason to believe that in the system "lead – zinc" effect of biological antagonism is formed.

Хімічна агресія техногенного забруднення навколишнього середовища, на думку фахівців, є провідним фактором ризику для популяційного здоров'я населення. Систематичне надходження контамінантів у суміжні життєзабезпечуючі середовища – повітря, воду, рослинні і тваринні харчові продукти за прямими й опосередкованими міграційними ланцюгами, створює і комплексний, і комбінований їх вплив на організм. При цьому слід зазначити, що саме хімічний фактор, з одного боку, є найменш вивченим у цьому відношенні, з іншого боку – представляє найбільш істотну і різко зростаючу екологічну загрозу для здоров'я людини.

Так, згідно з аналізом Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я (ВООЗ), у списку країн за загальною кількістю щорічних смертей від забруднення повітря Україна посідає 6 місце, а за показником смертності наша країна стала лідером у світі [12].

В організмі людини кісткова тканина має найбільші кумулятивні властивості по відношенню до багатьох ксенобіотиків, зокрема до групи важких металів, серед яких свинець є лідером за ступенем спорідненості до кісткової тканини [3, 9, 13, 10, 14, 18]. Враховуючи, що кальцій і свинець розподіляються, депонуються і метаболізуються практично ідентично, головною небезпечкою свинцю є не тільки накопичення його в кістковій тканині людини, але й заміщення в ній кальцію, що зменшує її щільність та сприяє розвитку остеопорозної патології [6].

Разом з тим, у механізмі розподілу та екскреції свинцю в організмі за даними [11, 17] суттєве значення має мікроелемент цинк, як його доведений біоантагоніст.

Слід підкреслити, що в останні роки кількість токсикологічних досліджень з вивчення впливу наночасток на об'єкти довкілля та людину суттєво зросла. Але, на жаль, активні дослідження впливу низькодозових рівнів нанометалів на організм майже не торкаються оцінки їх токсичних ефектів саме на кісткову тканину при ізольованому і/або комбінованому надходженні, а також порівняльних аспектів їх дії зі звичайними формами металів.

У зв'язку з цим метою є експериментальне дослідження особливостей впливу різних форм цинку на вміст кальцію у кістковій тканині при свинцевій інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ЇХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для проведення експериментальних досліджень було обрано самиць щурів лінії Wistar віком 2,5-3 місяці, з масою тіла 150-170 г. В експерименті використано методичні підходи, що

відповідають сучасним міжнародним вимогам щодо проведення токсикологічних експериментів з використанням тварин відповідно до Європейської конвенції. Утримували тварин в оптимальних умовах віварію на стандартному раціоні із вільним доступом до води та їжі відповідно до існуючих вимог [7]. Адаптаційний період тривав 12 днів, протягом якого визначали загальний стан тварин. Тварини були розподілені на п'ять піддослідних та одну контрольну групи у випадковому порядку з формуванням однорідності за середньою масою по 8 щурів у кожній групі.

В експериментальних моделях використовували розчини ацетату свинцю, хлориду цинку та цитрату цинку. Цитрат цинку був отриманий за аквананотехнологією і наданий Українським державним НДІ нанобіотехнології та ресурсозбереження (м. Київ). В умовах підгострого експерименту був змодельований ізольований вплив ацетату свинцю, хлориду цинку та цитрату цинку, комбінований вплив бінарних систем «ацетат свинцю - хлорид цинку» та «ацетат свинцю – цитрат цинку», який віддзеркалив реальне їх співвідношення у системі життєдіяльності населення промислово розвинутої території [2].

Відповідно до дизайну експерименту (рис. 1), дозу ацетату свинцю, близьку до $1/30000$ LD₅₀, що відповідає 0,05 мг/кг маси тіла, вводили ізольовано (перша дослідна група) та в комбінації з хлоридом цинку в дозі 1,5 мг/кг маси тіла, що в 7 разів нижче порогу токсичності [5] (четверта дослідна група) і з цитратом цинку в дозі 1,5 мг/кг (п'ята дослідна група). Хлорид цинку введений ізольовано в дозі 1,5 мг/кг тваринам другої дослідної групи, а цитрат цинку - в дозі 1,5 мг/кг (третя дослідна група). Щурам контрольної групи (шоста група) у ці ж строки вводили дистильовану воду, яку використовували при приготуванні агенту впливу. Для максимального наближення експерименту до природних умов обрано пероральний шлях введення за допомогою внутрішньошлункового зонду, згідно з методичними рекомендаціями з вивчення токсичності металів.

На кінцевому етапі дослідження проводили миттєву декапітацію тварин під тіопенталовим наркозом і відбирали матеріали для подальших досліджень відповідно до Європейської конвенції. Стегнову кістку препарували та виділяли за загальноприйнятими методиками [8]. У кістковій тканині визначали кількість кальцію методом титрування у Дніпропетровській філії ДІ «Інститут охорони ґрунтів України» «Держґрунтоохорона» [4].

Статистична обробка та аналіз результатів виконані за загальноприйнятими методиками з використанням ліцензійних програм статистичного аналізу Statistica v.6.1 та Microsoft Excel [1].

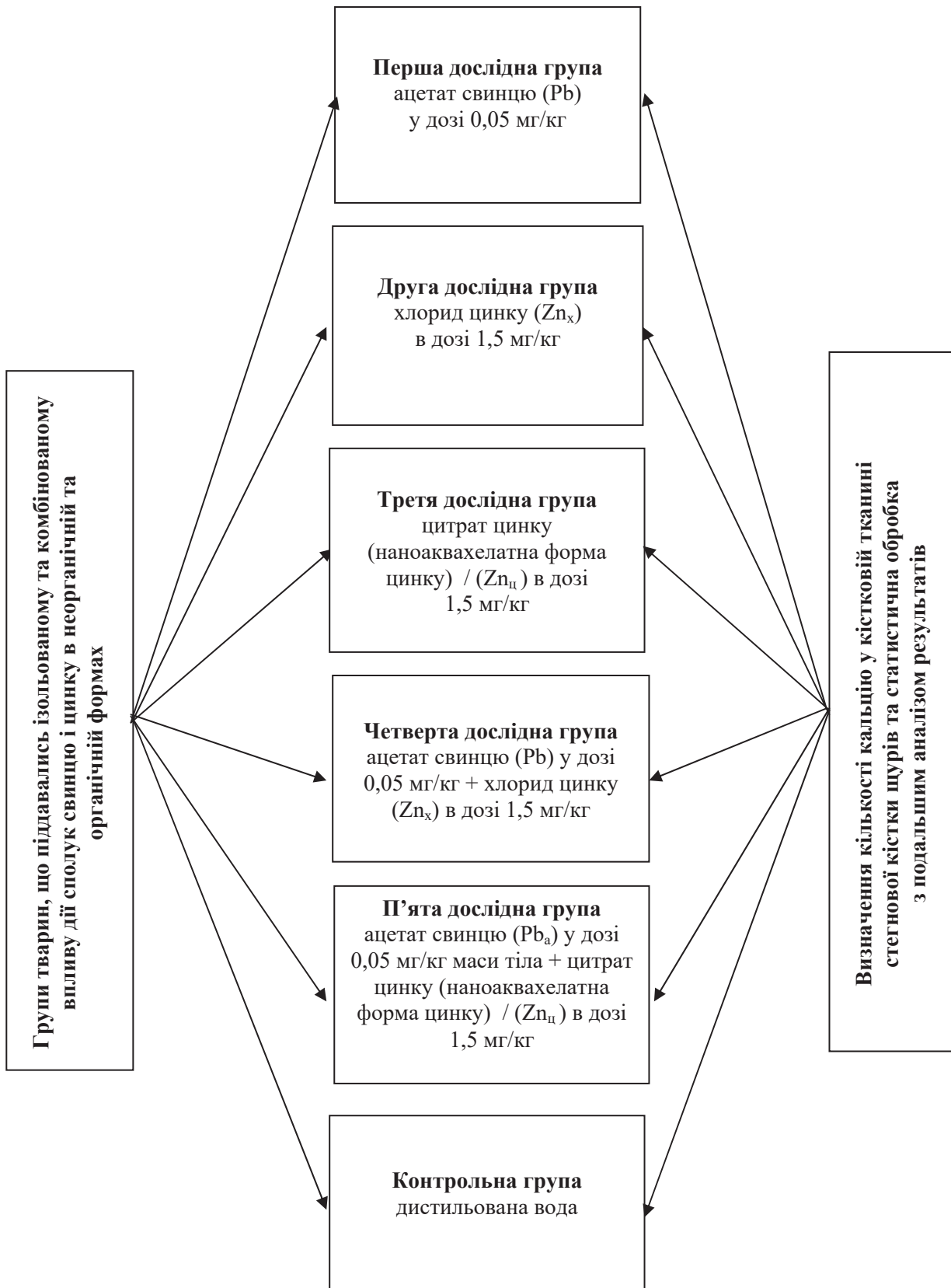


Рис. 1. Дизайн експериментальних досліджень

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати свідчать, що низько-дозові рівні ацетату свинцю при ізольованому та комбінованому його введенні з препаратами цинку в організм тварин протягом підгострого досліджу призводять до змін вмісту кальцію у стегнових кістках щурів різноспрямованого характеру.

Так, у тварин першої групи під впливом свинцю середня концентрація кальцію в кістковій тканині становить $78,5 \pm 0,08$ мг/г (табл.), що порівняно з аналогічними даними контрольної групи тварин на 28% нижче ($109,1 \pm 0,22$ мг/г) та підтверджується високим ступенем статис-

тичної вірогідності ($p < 0,01$). Отримані дані кореспондуються з результатами подібних досліджень інших авторів [13].

Аналіз результатів дозволяє вважати, що за рахунок значного зменшення вмісту кальцію у кістковій тканині в умовах дії свинцю, з урахуванням його тропності до кісткової тканини, акумулюючої близько 90% свинцю організму, створюються передумови порушення мінерального складу кісток, яке здатне спричинити певні морфологічні зміни та розвиток у подальшому остеопатій [13, 14].

Вміст кальцію в кістковій тканині щурів

П/п групи	Розчини, що вводились тваринам	Статистичні показники	Отримані результати мг/г
1 група	ацетат свинцю (Pb)	M ±m	78,5 * 0,08
2 група	хлорид цинку (Zn _н)	M ±m	155,0* 0,99
3 група	цитрат цинку (наноаквахелатна форма цинку) / (Zn _н)	M ±m	222,2 * 3,0
4 група	ацетат свинцю (Pb) + хлорид цинку (Zn _н)	M ±m	91,4 * 0,24
5 група	ацетат свинцю (Pb) + цитрат цинку (наноаквахелатна форма цинку) / (Zn _н)	M ±m	95,8 * 0,3
6 група	дистильована вода	M ±m	109,1 0,22

Примітка. * - $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою.

Вміст кальцію в кістковій тканині при ізольованому впливі хлориду цинку на щурів за середніми величинами становить $155,0 \pm 0,99$ мг/г, що у півтора рази більше порівняно з контрольною групою ($p < 0,01$). Це зростання кальцію пов'язано зі встановленою останніми десятиріччями остеотропністю цинку, його важливою роллю у процесі забезпечення мінерального гомеостазу кісткової тканини [19]. Так, виявлено, що в кістці міститься значний рівень – 30% від загальної кількості цинку в організмі [15], який бере безпосередню участь у синтезі органічного матриксу кістки [16].

Ще більше зростання кальцію отримано при ізольованому введенні цитрату цинку у наноаквахелатній формі. Результати свідчать, що вміст кісткового кальцію за середніми значеннями достовірно збільшений у 2,04 рази по відношенню до контрольної групи ($p < 0,01$) та

становить $222,2 \pm 3,0$ мг/г. Тобто аквацитрат цинку має такі ж властивості, як і неорганічна форма, але внаслідок більшої біодоступності порівняно зі звичайним цинком [7] швидше проникає через кишковий бар'єр, зв'язується з активними центрами ферментів і мобілізує кістковий метаболізм.

Середня концентрація кальцію у кістках дослідних тварин четвертої групи, експонованих бінарною сумішшю «свинець – цинк», становила $91,4 \pm 0,24$ мг/г, що по відношенню до контролю на 16,2% нижче, до тварин свинцевої групи – на 14,1% вище, а порівняно зі щурами цинкової групи - на 41% нижче (рис. 2).

Аналіз таких різноспрямованих результатів дозволяє висунути певні припущення. Ізольована дія свинцю викликає максимальне зменшення кісткового кальцію, у зв'язку з відомою остеотропністю свинцю, який характеризується

схожими на кальцій фізико-хімічними властивостями, заміщує останній у кістковій матриці із подальшими наслідками його депонування. Ізольований вплив цинку призводить до суттєвого зростання кальцію в кістках. При одночасному введенні в організм свинцю та цинку, окрім описаних вище особливостей, відбуваються зміни хімічного складу кісткової тканини в процесі експерименту, що пояснюється антаго-

ністичними взаємодіями досліджуваних речовин між собою на різних рівнях – всмоктування в шлунково-кишковому тракті, транспортування, тканинному та клітинному рівнях, що зумовлює блокування остеотропної активності в першу чергу свинцю, це, в свою чергу, призводить до значного гальмування процесу втрати кальцію кісткової тканиною.

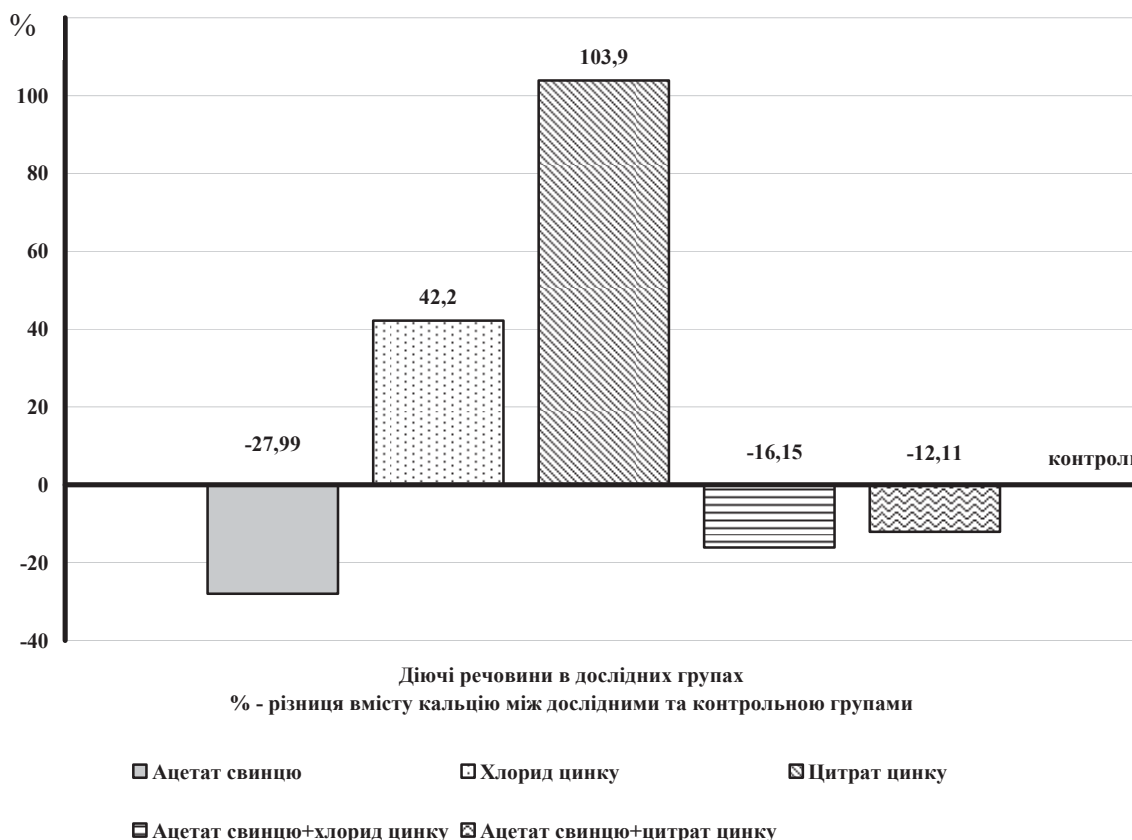


Рис. 2. Вплив ізольованої та комбінованої дії свинцю й органічної та неорганічної форм цинку на вміст кальцію в кістковій тканині лабораторних тварин

Щодо зростання вмісту кальцію в кістках при введенні цинку, то це може бути пов'язано, на наш погляд, із потенціюванням ним кісткового метаболізму, про що мова теж йшла раніш.

Отже, вплив бінарної суміші «свинець – цинк» певною мірою гальмує процес накопичення свинцю в кістковій тканині і втрати нею кальцію завдяки саме цинку - відомому біоантагоністу свинцю [11, 17], що ще раз доводить біопротекторні властивості цинку по відношенню до остеотропної дії останнього.

Стосовно моделювання одночасного впливу свинцю і цитрату цинку, то спрямованість змін вмісту кальцію в кістках щурів порівняно з

ізольованою дією цих речовин свідчить про їх тотожність з результатами четвертої дослідної групи. Так, аналіз рівнів кальцію у щурів п'ятої групи виявив збільшення кісткового кальцію на 22,04% порівняно з першою групою впливу свинцю ($p < 0,01$). Вірогідно припустити, що на-ноаквахелатна форма цинку внаслідок більшої біодоступності, порівняно зі звичайним цинком, при комбінованому введенні зі свинцем ще більшою мірою, ніж неорганічний цинк, підвищує рівень кісткового кальцію – на 7,93% ($p < 0,01$).

Порівнюючи результати четвертої та п'ятої груп щурів з контрольною, доцільно відзначити позитивну особливість, що середні показники

кількості кальцію в кістковій тканині обох експериментальних груп практично відповідають даним контрольної групи.

Таким чином, у результаті проведених експериментальних досліджень встановлено, що при ізольованому введенні хлориду цинку та цитрату цинку вміст кісткового кальцію більший за контрольну групу в 1,42 та 2,04 рази відповідно. Та за умов комбінованого введення цинку та ацетату свинцю зменшує остеотропність останнього, що проявляється достовірним збільшенням вмісту кальцію у стегнових кістках експериментальних тварин, особливо в комбінації з цитратом цинку ($p < 0,01$), що підтверджує остеопротекторність цинку за умови свинцевої інтоксикації.

Вищенаведене дає підставу вважати, що в системі «свинець – цинк» формується ефект біологічного антагонізму. Змінюючи кінетичні параметри свинцю та інтенсивність його зв'язування з SH-групами ферментів, нанозинк внаслідок більшої біодоступності порівняно зі звичайним цинком [7] швидше проникає через кишковий бар'єр і зв'язується з активними

центрами ферментів, перешкоджаючи формуванню стійких комплексів зі свинцем, проте це припущення потребує подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Низькодозовий вплив свинцю протягом підгострого дослідження зумовлює достовірне зменшення вмісту кальцію в кістковій тканині на 28% порівняно з аналогічними даними контрольної групи тварин, що знижує її щільність та стає фактором ризику розвитку остеопенії та остеопорозних станів організму.

2. Комбінований вплив свинцю й органічних та неорганічних форм цинку достовірно збільшує вміст кальцію на 16,43% та 22,04% відповідно, порівняно зі свинцевою групою, що дозволяє припустити протекторні властивості цинку при свинцевій інтоксикації за рахунок ефекту біоантагонізму.

3. Цинк в органічній формі має більш потужні протекторні ефекти, ніж у неорганічній формі, що підтверджується збільшенням вмісту кальцію при дії свинцю у 2 та 1,4 рази відповідно.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М.Ю. Антомонов. – Киев, 2006. – 558 с.
2. Белецкая Э.Н. Биопрофилактика экзозависимых состояний у населения индустриально развитых территорий / Э.Н. Белецкая, Т.А. Головова, Н.М. Онул // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2011. – Т.3, № 2. – С. 48-56.
3. Белецкая Э.Н. Гигиенические аспекты остеотропности свинца как фактора риска кальцийдефицитной патологии у человека (обзор литературы) / Э.Н. Белецкая, Н.М. Онул, О.В. Безуб // Медицинские перспективы. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 130-139.
4. ГОСТ 26570-95 Межгосударственный стандарт. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения кальция.
5. Ершов Ю.А. Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю.А. Ершов, Т.В. Плетнева. – Москва: Медицина, 1989. – 272 с.
6. Куценко С.А. Основы токсикологии / С.А. Куценко. – Санкт-Петербург, 2002. – 395 с.
7. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах / В.В. Пішак, В.Г. Висоцька, В.М. Магальяс [та ін.]. – Чернівці: Мед. ун-т, 2006. – 350 с.
8. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов / Е.А. Антонович, Ю.С. Каган, Е.И. Спину [и др.]. – Киев, 1988. – 212 с.
9. Allen L.H. Food Safety: Heavy Metals / L.H. Allen // Encyclopedia of Human Nutrition. Third Edition. – 2013. – P. 331-336.
10. Blood lead and cadmium levels in a six hospital employee population. PESA study, 2009 / M. González-Estecha, E. Trasobares, M. Fuentes [et. al.] // J. Trace Elem. Med. Biol. – 2011. – Vol. 25. – P. 22-29.
11. Boscolo P. Neurohumoral blood pressure regulation in lead exposure / P. Boscolo, M. Carmignani // Environ Health Perspect. – 1988. – Vol. 78. – P. 101-106.
12. Bushak L. China tops WHO list for deadly outdoor air pollution / L. Bushak // WHO. – 2016. E-resource: <https://www.theguardian.com/environment/2016/sep/27/more-than-million-died-due-air-pollution-china-one-year>
13. Effects of subchronic exposure to lead acetate and cadmium chloride on rat's bone: Ca and Pi contents, bone density, and histopathological evaluation / H. Lu, G. Yuan, Z. Yin [et. al.] // Int. J. Clin. Exp. Pathol. – 2014. – Vol. 7. – P. 640-647.
14. Kupraszewicz E. Excessive ethanol consumption under exposure to lead intensifies disorders in bone metabolism: A study in a rat model / E. Kupraszewicz, M.M. Brzóska // Chem. Biol. Interact. – 2013. – Vol. 203. – P. 486-501.
15. Moser-Veillon R.B. Zinc needs and homeostasis during lactation / R.B. Moser-Veillon // Analyst. – 1995. – Vol. 120. – P. 895-897.
16. Persicov A.V. Unstable molecules form stable tissues / A.V. Persicov, B. Brodsky // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2002. – Vol. 99, N 3. – P. 1101-1103.
17. Plasma renin activity and urinary kallikrein excretion in lead-exposed workers as related to

hypertension and nephropathy / P. Boscolo, G. Galli, A. Iannaccone [et al.] // *Life Sci.* – 1981. – Vol. 28. – P. 175-184.

18. Quantification of metallothionein on the liver and kidney of rats by subchronic lead and cadmium in

combination / S. Dai, Z. Yin, G. Yuan [et al.] // *Environ Toxicol Pharmacol.* – 2013. – Vol. 36. – P. 1207-1216.

19. Schoenau E. The "Muscle-Bone-Unit" in Children and Adolescents / E. Schoenau, H. M. Frost // *Calcif Tissue Int.* – 2002. – Vol. 70. – P. 405-407.

REFERENCES

1. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. Kiev, 2006;558. Russian.

2. Beletskaya EN, Golovkova TA, Onul NM. [Biological prevention of ecologically dependent conditions in the population of industrialized territories]. *Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny.* 2011;3(2):48-56. Russian.

3. Beletskaya EN, Onul NM, Bezub OV. [Hygienic aspects of osteotropism of lead as a risk factor calciomercato pathology in humans (literature review)]. *Medicni perspektivi.* 2014;19(2):130-9. Russian.

4. [GOST 26570-95 Interstate standard. Feed, mixed fodders, feed raw materials. Methods for the determination of calcium]. Russian.

5. Ershov YuA, Pletneva TV. [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. Moskva: Meditsina, 1989;272. Russian.

6. Kutsenko SA. [Fundamentals of toxicology]. Sankt-Peterburg, 2002;395. Russian.

7. Pishak VV, Visots'ka VG, Magalyas VM. [Laboratory animals in biomedical experiments]. Chernivtsi: Med. un-t, 2006;350. Ukrainian.

8. Antonovich EA, Kagan YuS, Spynu EI. [Methodical instructions on hygienic evaluation of new pesticides]. Ministerstvo zdravookhraneniya SSSR; VNII gigieny i toksikologii pestitsidov, polimerov i plasticheskikh mass. Kiev; 1988. Russian.

9. Allen LH. Food Safety: Heavy Metals. *Encyclopedia of Human Nutrition.* Third Edition. 2013;331-6.

10. González-Estecha M, Trasobares E, Fuentes M. Blood lead and cadmium levels in a six hospital employee

population. PESA study, 2009. *J Trace Elem Med Biol.* 2011;25:22-29.

11. Boscolo P, Carmignani M. Neurohumoral blood pressure regulation in lead exposure. *Environ Health Perspect.* 1988;78:101-6.

12. Bushak L. China tops WHO list for deadly outdoor air pollution. WHO.-2016. Available from: <https://www.theguardian.com/environment/2016/sep/27/more-than-million-died-due-air-pollution-china-one-year>

13. Lu H, Yuan G, Yin Z. Effects of subchronic exposure to lead acetate and cadmium chloride on rat's bone: Ca and Pi contents, bone density, and histopathological evaluation. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7:640-7.

14. Kupraszewicz E, Brzóska MM. Excessive ethanol consumption under exposure to lead intensifies disorders in bone metabolism: A study in a rat model. *Chem Biol Interact.* 2013;203:486-501.

15. Moser-Veillon RB. Zinc needs and homeostasis during lactation. *Analyst.* 1995;120:895-7.

16. Persicov AV, Brodsky B. Unstable molecules form stable tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002;99(3):1101-3.

17. Boscolo P, Galli G, Iannaccone A. Plasma renin activity and urinary kallikrein excretion in lead-exposed workers as related to hypertension and nephropathy. *Life Sci.* 1981;28:175-84.

18. Dai S, Yin Z, Yuan G. Quantification of metallothionein on the liver and kidney of rats by subchronic lead and cadmium in combination. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2013;36:1207-16.

19. Schoenau E, Frost HM. The "Muscle-Bone-Unit" in Children and Adolescents. *Calcif Tissue Int.* 2002;70:405-7.

Стаття надійшла до редакції
03.10.2016

