

Khopta N. S., Bazalytska I. S., Ersteniuk A. M. Some aspects of the toxic effects of cadmium on organism of experimental animals. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(3):559-569. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.545644>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/43978>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 27.03.2017. Revised 28.03.2017. Accepted: 29.03.2017.

UDK 546.48:577.12:591.84

SOME ASPECTS OF THE TOXIC EFFECTS OF CADMIUM ON ORGANISM OF EXPERIMENTAL ANIMALS

N. S. Khopta, I. S. Bazalytska, A. M. Ersteniuk

Ivano-Frankivsk National Medical University

khopta31@ukr.net

Abstract

The work investigates peculiarities of metabolic processes, bioelemental composition and structural changes in white rats' bone tissue in the presence of cadmium ions (1/10 LD₅₀ CdCl₂) damage both singly and in combination. Administration of cadmium ions in male rats has been found to cause the development of dysmicroelementosis accompanied by the disturbance of metabolic processes in bone tissue. It has been observed the disturbance of phosphorous-calcium metabolism in terms of level of different forms of calcium, phosphates, acid and alkaline phosphatase in the dynamics of intoxication development. It has been investigated the content of osteotropic elements and bone tissue mineral density, collagen matrix damage degree by hydroxyproline level and histological examinations. Changes in parathormone and calcitonin levels have been detected. This comprehensive study showed that the most severe disturbances occur on the 14th day after ten-day period of animals' intoxication with CdCl₂.

Key words: cadmium chloride, bone tissue, bone metabolism markers, osteotropic bioelements, bone tissue mineral density.

ДЕЯКІ АСПЕКТИ ТОКСИЧНОГО ВПЛИВУ КАДМІЮ НА ОРГАНІЗМ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН

Н. С. Хопта, І. С. Базалицька, А. М. Ерстенюк

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

khopta31@ukr.net

Реферат

Наведено результати дослідження особливостей метаболічних процесів, біоелементного складу та структурних змін у кістковій тканині білих щурів за умов ураження йонами кадмію (1/10 LD₅₀ CdCl₂). З'ясовано, що введення в організм щурів-самців йонів кадмію призводить до розвитку дисмікроелементозу, який супроводжується порушенням метаболічних процесів у кістковій тканині. Отримані результати свідчать, що під впливом йонів кадмію відбуваються достовірні зміни маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові (різних форм кальцію, фосфатів, активності кислої та лужної фосфатази), які вказують на порушення фосфорно-кальцієвого обміну, що має важливе значення для стану мінерального матриксу КТ. При цьому спостерігаються достовірні зміни з боку гормонів-регуляторів фосфорно-кальцієвого обміну (паратгормону та кальцитоніну). Вивчено вміст остеотропних біоелементів та зміни мінеральної щільності різних ділянок стегнових кісток тварин, а також ступінь ушкодження колагенової матриці за рівнем гідроксипроліну і гістологічними дослідженнями. Такі комплексні дослідження показали, що найбільш суттєві порушення виникають на 14-ту добу після десятиденного надходження в організм тварин іонів кадмію і проявляються переважанням процесів остеокластичної резорбції у стегнових кістках над остеосинтезом.

Ключові слова: кадмію хлорид, кісткова тканина, маркери кісткового метаболізму, остеотропні біоеlementи, мінеральна щільність кісткової тканини.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ КАДМИЯ НА ОРГАНИЗМ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н. С. Хопта, И. С. Базалицкая, А. М. Эрстенюк

Ивано-Франковский национальный медицинский университет

Реферат

Статья посвящена исследованию особенностей метаболических процессов, биоэлементного состава и структурных изменений в костной ткани белых крыс в условиях поражения ионами кадмия. Токсикант вводили животным на протяжении 10-ти суток, а потом выводили из эксперимента на 1-, 14- и 28-е сутки. Исследовали кровь и бедренные кости. В крови исследовали показатели кальций-фосфорного обмена, активность кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз, концентрацию магния, гидроксипролина (ГП), а также уровень паратгормона и кальцитонина. Установлено возрастание концентрации общего и ионизированного кальция на фоне увеличенной секреции паратгормона и сниженной кальцитонина; снижение активности ЩФ и увеличение КФ. У животных наблюдали значительное увеличение концентрации ГП и снижение магния. Эти данные свидетельствуют о нарушениях течения метаболических процессов в КТ, активации резорбции и разрушения коллагеновой матрицы в условиях поступления в организм животных $CdCl_2$. Результаты биохимических исследований подтверждаются гистологически: в остеонном слое наблюдаются явления гладкой и паузной резорбции КТ, остеопороз с множественными полостями, заполненными остеокластами и остеобластами. Установлено, что в динамике интоксикации развивается деминерализация КТ, что подтверждается снижением содержания Ca, Mg, Cu и Zn в бедренных костях на фоне значительного увеличения содержания Cd, а также снижение МПКТ. Полученные результаты свидетельствуют, что в условиях введения в организм животных $CdCl_2$ нарушаются метаболические процессы в КТ, развивается дисмикрэлементоз, происходит деминерализация минеральной фазы кости, разрушается ее коллагеновая матрица, процессы резорбции доминируют над остеосинтезом.

Ключевые слова: хлорид кадмия, костная ткань, маркеры костного метаболизма, остеотропные биоэлементы, минеральная плотность костной ткани.

Вступ

Метаболічні процеси в кістковій тканині (КТ), ступінь її мінералізації, збалансованість процесів де- і ремінералізації великою мірою визначаються вмістом життєво необхідних макро- та мікроелементів [1]. Деякі автори [2] вказують на порушення структури кісток скелета під впливом чинників зовнішнього та внутрішнього середовища. Зважаючи на зростаюче техногенне й антропогенне забруднення довкілля [3], сьогодні актуальним є вивчення впливу на КТ поширених поллютантів, до яких належать солі важких металів, зокрема, кадмію (Cd) [4, 5]. Механізм токсичного впливу Кадмію пов'язаний із його здатністю активувати процеси пероксидації ліпідів та білків за одночасного зниження активності системи антиоксидантного захисту, порушувати цілісність мембран, пригнічувати активність ензимів, блокуючи -SH групи [6, 7]. Біоцидні ефекти йонів Cd²⁺ виявляються в його здатності до утворення хелатних комплексів із біомолекулами, що призводить до інактивації ензимних систем та значної кумуляції в тканинах і органах. Деякі автори [4] наголошують на прямому токсичному впливі йонів Cd²⁺ на мінеральний матрикс КТ, зумовлений їх антагонізмом із есенціальними макро- та мікроелементами. Інші вважають, що токсична дія Cd стосовно КТ зв'язана з ураженням нирок [6] та щитоподібної залози [4, 8]. Однак, незважаючи на різноманітність наукових публікацій, присвячених дослідженню впливу сполук Кадмію на організм людини і тварин, не з'ясованими залишаються біохімічні механізми впливу цього токсиканту на обмінні процеси та структуру КТ.

Мета роботи

З'ясувати особливості метаболічних процесів, зміни рівня кальційрегулюючих гормонів, біоелементного складу, мінеральної щільності (МЩКТ) та структури кісткової тканини тварин за умов впливу кадмію хлориду (CdCl₂).

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на 53 особинах білих безпородних щурів-самців масою 180-220 г. Утримання тварин, їх годівля та маніпуляції з ними проводили з дотриманням вимог біоетики [9]. Тварин поділено на інтактних (контроль) та три дослідні групи по 12-18 тварин у кожній. Інтоксикацію здійснювали протягом 10 діб введенням CdCl₂ дозою 1/10 LD₅₀ щоденно раз на добу. Після завершення введення CdCl₂ тварин виводили з експерименту на 1-шу, 14-ту та 28-му добу під легким ефірним наркозом та подальшою декапітацією. Для дослідження брали кров і стегнові кістки, які очищували від м'яких тканин, піддавали денситометричному дослідженню

та озоленню. Частину кісток готували до гістологічного дослідження (фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну). Декальцинацію проводили за Віленсоном, 1950. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для мікрофотографування використовували мікроскопи Люмам P8 та Axioskop, програмне забезпечення IS-capture (V.1.0). Біохімічні дослідження показників фосфорно-кальцієвого обміну та маркерів кісткового метаболізму у плазмі крові проводили у біохімічній лабораторії на базі Центру біоелементології ІФНМУ за стандартизованими методиками з використанням наборів реактивів: активність лужної фосфатази (ЛФ) – “Філісіт”, кислої фосфатази (КФ) – “Вітал” (Росія), концентрації Ca, фосфатів – “Simko”; концентрації Mg – “Lachema” (Чехія). Концентрацію гідроксипроліну (ГП) визначали окисненням його H_2O_2 до піролу в лужному розчині за наявності Cu^{2+} (Склярів О. Я., 2002). Концентрацію йонізованого Ca^{2+} визначали комплексометрично (Фастовець О. О., 2005). Визначення концентрації кальцитоніну і паратгормону (ПТГ) проводили з допомогою імуноферментного аналізу з використанням наборів “Імунологія-ELISA” та “ACTIVE I-PTH” (USA). Макро- і мікроелементний склад стегнових кісток визначали атомно-абсорбційним методом з використанням спектрофотометра С-115ПК. Структурно-функціональний стан КТ досліджували за допомогою еталонної рентгенівської денситометрії стегнових кісток щурів на апараті KUNT CERD-701. Статистичну обробку проводили на ПК за допомогою програм Microsoft Excel та STATISTICA 6,0, результати вважалися достовірними, якщо $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

Одержані результати (табл. 1) показали, що за умов кадмієвої інтоксикації спостерігається зниження рівня загального та йонізованого Ca плазми крові вже на 1-шу добу: відповідно на 17 та 24 %. На 14-ту добу спостерігалась гіперкальціємія за рахунок фракції зв'язаного Ca, оскільки рівень Ca^{2+} залишався нижчим за показники здорових тварин на 15 %. Однак на 28-му добу зафіксовано істотне зростання як загального (на 38 %), так і йонізованого Ca^{2+} (на 22 %). Такі зміни концентрації загального Кальцію та його найбільш активної форми – йонізованої можуть бути зумовлені безпосереднім антагоністичним впливом йонів Cd^{2+} на мінеральний матрикс КТ через витіснення Ca як зі структури аморфного фосфату Ca, так і з гідроксіапатитів. Дослідження рівня гормонів, які визначають метаболізм Кальцію, показали, що на 14-у добу після завершення введення $CdCl_2$ рівень ПТГ зростав у 4,9 разів, а кальцитоніну знижувався у 12,5 рази. Такі показники дозволяють пояснити порушення не тільки

концентрації Са в крові, а також і фосфатів. Рівень фосфатів достовірно зростав на 14-ту та 28-му добу відповідно на 32 та 27 %.

Таблиця 1

Біохімічні показники плазми крові щурів, уражених CdCl₂, (M ± m)

Досліджувані показники, ммоль/л	інтактні n = 18	Дослідні групи тварин		
		1-ша доба (n = 13)	14-та доба (n = 11)	28-ма доба (n = 11)
Кальцій	2,34 ± 0,08	1,94 ± 0,13*	2,91 ± 0,21*	3,23 ± 0,18**
Са ²⁺	0,68 ± 0,02	0,52 ± 0,03*	0,58 ± 0,04*	0,83 ± 0,05*
Фосфати	1,33 ± 0,05	1,39 ± 0,06	1,76 ± 0,12**	1,69 ± 0,13*
Активність ЛФ, мкмоль/с·л	15,07 ± 0,08	7,23 ± 0,25**	7,72 ± 0,56*	11,55 ± 0,85*
Активність КФ, мкмоль/с·л	0,93 ± 0,23	1,57 ± 0,26*	2,33 ± 0,39**	2,02 ± 0,07*
ЛФ/КФ	16,20 ± 0,35	4,61 ± 0,96**	3,31 ± 0,43**	5,72 ± 0,18*
Гідроксипролін	28,31 ± 2,79	52,38 ± 2,19*	60,54 ± 4,78**	70,53 ± 3,14**
Магній	0,72 ± 0,08	1,66 ± 0,19**	0,42 ± 0,07**	0,47 ± 0,05*

Примітка. Тут і далі : * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 – ступінь вірогідних змін порівняно з показниками інтактної групи тварин.

У такому випадку важливо дослідити активність фосфатаз, які відіграють провідну роль у обміні фосфатів. Активність ЛФ достовірно знижувалась на 1-шу добу після завершення введення CdCl₂ – у 2,1 разів, а потім поступово підвищувалась, однак, залишалась нижчою у 1,3 рази за показники інтактних тварин наприкінці спостереження. Водночас у тварин дослідної групи зафіксовано зростання активності КФ, яка є маркером діяльності остеокластів. Її активність перевищувала значення інтактних у 1,7 – 2,5 рази протягом усього експерименту, що засвідчує активацію процесів резорбції КТ. Збалансованість процесів остеосинтезу і резорбції лежать в основі ремоделювання КТ та нормального перебігу метаболічних процесів у ній. Відображенням гармонії цих процесів може бути відношення активностей фосфатаз. За результатами досліджень індекс ЛФ/КФ протягом усього періоду спостережень був у 2,8 – 4,9 разів нижчим, ніж показники інтактних тварин, а найнижчі значення були на 14-ту добу. Такі дані свідчать про переважання процесів резорбції над остеосинтезом у цей період [8, 10]. Активність фосфатаз перебуває під контролем макро- та мікроелементів, які виступають активаторами або інгібіторами ензимів. Із огляду на це, важливим є дослідження концентрації Mg як активатора ЛФ. Динаміка змін

концентрації Mg у плазмі крові тварин дослідної групи мала такий характер: на 1-шу добу концентрація Mg була достовірно вищою у 2,3 рази ніж показники інтактних, у наступні періоди різко знижувалася – на 35 % нижче контролю.

На тлі таких змін констатовано порушення обміну органічної матриці кістки, що підтверджується поступовим зростанням концентрації в плазмі крові ГП – маркерної амінокислоти катаболізму колагену. Зокрема, вже на 1-шу добу експерименту концентрація ГП в плазмі крові досліджуваних тварин перевищувала значення інтактних у 1,85 рази, а на 28-му – у 2,49 рази, що свідчить про порушення обміну колагену. Такі результати можуть спостерігатись унаслідок активації процесу катаболізму колагену під дією колагенази, активатором якої є ПТГ [8]. Водночас, може порушуватись нативна структура колагену через взаємодію йонів Cd^{2+} як кислоти Льюїса з ϵ -аміногрупами 5-оксилізіну, а також тому що катіони Cd^{2+} блокують активність ензимів, які контролюють процеси посттрансляційних модифікацій, зокрема, проліл- і лізилгідроксилаз. Важлива роль у цьому процесі належить Купруму. Зменшення вмісту цього мікроелемента в золі стегнових кісток на 21 – 32 %, яке спостерігалось у інтоксикованих тварин, може призводити до гальмування окиснювального дезамінування залишків лізіну і оксилізіну з утворенням альдегідних форм під впливом Cu-залежної лізілоксидази. Зменшення кількості цих продуктів призводить до зниження кількості міцних поперечних ковалентних зв'язків, які "зшивають" поліпептидні ланцюги в молекулі тропоколагену і розташованих поряд у фібрилах молекул. Це погіршує структуру та механічні властивості колагенових волокон.

Отримані результати досліджень свідчать (див. табл. 1), що під впливом йонів Cd^{2+} у плазмі крові досліджуваних тварин спостерігаються достовірні зміни показників, які вказують на порушення фосфорно-кальцієвого обміну, що має важливе значення для стану мінерального матриксу КТ, а також порушення органічної матриці кістки, зокрема колагену (збільшення рівня ГП). При цьому спостерігаються достовірні зміни з боку гормонів-регуляторів фосфорно-кальцієвого обміну (ПТГ та кальцитоніну). Такі дані дають змогу припустити, що за умов кадміозу відбувається остеоліз, процеси демінералізації домінують у кістковій тканині.

В уражених кадмієм тварин з допомогою атомно-адсорбційного аналізу встановлено суттєві порушення рівня основних остеотропних макро- і мікроелементів у стегнових кістках на тлі накопичення Cd (табл. 2): вміст Ca поступово знижувався на 13–25 %, а Zn і Cu – відповідно на 23–32% та 21–32%, найнижчі показники вмісту Zn

спостерігались на 1-шу, а Cu – на 14-у добу. Рівень Mg до кінця експерименту знижувався на 25 %. Завдяки подібній будові йонів Zn^{2+} та Cd^{2+} останній конкурентно взаємодіє з лігандними групами Zn^{2+} на біомолекулах і може заміщувати йони Zn^{2+} та Cu^{2+} в складі металоензимів, змінюючи їх каталітичні властивості, зокрема ЛФ, що є важливими патохімічними механізмами токсичної дії йонів Cd^{2+} [5, 6].

Таблиця 2

Біолементний склад золи стегнових кісток щурів, уражених $CdCl_2$, ($M \pm m$)

Елемент	Інтактні n=18	Дослідні групи тварин		
		1-ша доба (n=8)	14-та доба (n=8)	28-ма доба (n=10)
Ca, мг/г золи	330,9 ± 6,2	288,9 ± 3,9*	250,4 ± 6,5*	264,1 ± 7,7**
Mg, мг/г золи	38,1 ± 1,4	39,4 ± 1,3	39,5 ± 2,4	28,5 ± 0,9*
Zn, мкг/г золи	458,6 ± 37,2	310,5 ± 23,6**	356,6 ± 10,0**	355,4 ± 8,1**
Cu, мкг/г золи	17,9 ± 0,9	14,2 ± 1,0*	12,3 ± 0,7*	12,4 ± 0,9*
Cd, мкг/г золи	2,10 ± 0,26	9,58 ± 0,29**	19,84 ± 1,32***	20,6 ± 1,1***

Водночас відомо [4], що Кадмій здатний витіснити Кальцій із структури гідроксіапатитів, що має істотне значення для МЦКТ. Визначення МЦКТ стегнових кісток засвідчило найістотніше зниження цього показника на 14-ту добу у різних ділянках: епіфіз – 50 %, діафіз – 52 %, головка – 58 %, шийка – 49 %. Наприкінці експерименту МЦКТ підвищувалась, однак була достовірно нижчою від значення інтактних тварин на 21-25 %, найнижчий показник МЦКТ зафіксовано у шийці стегнової кістки.

Гістологічні дослідження дозволили встановити, що на 14-ту добу після введення $CdCl_2$ у компактній КТ діафіза стегнових кісток визначаються порушення структури усіх шарів: дезорганізація колагенових волокон органічної матриці та впорядкованого розміщення кісткових пластинок (рис 1). У остеонному шарі спостерігаються вища остеопорозу з наявністю множинних порожнин, заповнених сполучною тканиною, остеокластами та остеобластами. На 28-му добу знижуються кількість та об'єм остеопоротичних порожнин у остеонному шарі на тлі активації процесів відновлення органічної матриці. Водночас, в деяких тварин визначаються явища резорбції КТ і посилена активність остеобластів.

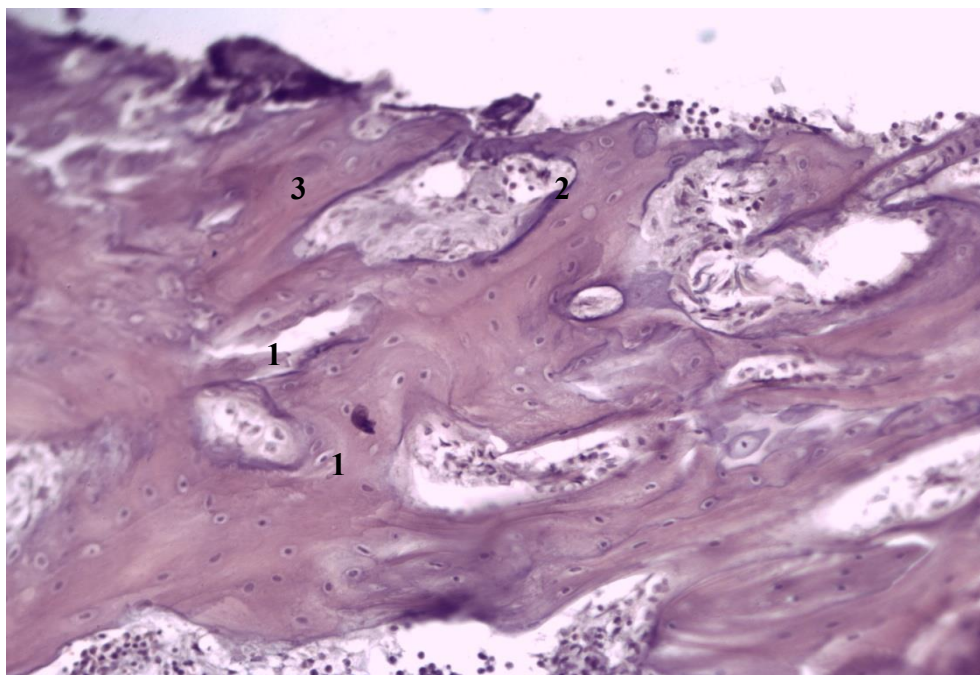


Рис. 1. Компактна КТ діафіза стегнової кістки щура на 14-ту добу після десятиденного введення $CdCl_2$:

- 1 – остеопоротична порожнина;
- 2 – остеобласти;
- 3 – остеокласт.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.
Мікрофотографія. Збільшення: $\times 560$.

Висновки

Біохімічні зміни метаболічних показників плазми крові тварин за умов експериментальної кадмієвої інтоксикації характеризуються достовірним зниженням активності ЛФ та концентрації магнію, підвищенням концентрації гідроксипроліну та активності КФ, що свідчить про порушення метаболічних процесів у кістковій тканині, зокрема, про переважання процесів резорбції над остеосинтезом. Достовірне зниження вмісту в стегнових кістках есенціальних макро- і мікроелементів Кальцію, Магнію, Купруму та на тлі суттєвого зростання вмісту Кадмію вказує на порушення мінерального матриксу кісткової тканини.

Зниження рівня кальцитоніну та підвищення паратгормону у плазмі крові дослідних тварин призводить до значних порушень фосфорно-кальцієвого обміну, особливо на 14-ту добу після завершення введення $CdCl_2$. Результати атомно-абсорбційного, денситометричного та гістологічного досліджень дозволяють стверджувати, що в процесі інтоксикації кадмію хлоридом спостерігаються структурні

зміни кісткової тканини, які проявляються явищами остеопорозу в остеонному шарі компактної кістки та численними узурами в губчастій тканині. Найбільше знижується МЩКТ у головці та шийці стегнової кістки. Такі дані можуть свідчити про переважання процесів остеокластичної резорбції у стегнових кістках над остеосинтезом за умов впливу CdCl₂.

Література

1. Поворознюк В. В. Остеопороз та біохімічні маркери метаболізму кісткової тканини / В. В. Поворознюк // *Лабораторна діагностика*. – 2008. – №1. – С. 53–61.
2. Лучинський М. А. Особливості формування стоматологічної патології у дітей, які проживають у різних екологічних умовах (огляд літератури) / М. А. Лучинський, О. І. Остапко, Ю. І. Лучинська // *Клінічна стоматологія*. – 2014. – № 1. – С. 35–41.
3. Golovkova T. A. Harmful effects of the environment xenobiotics on the human body / T. A. Golovkova // *Актуальні проблеми транспортної медицини*. – 2016. – № 3 (45). – С. 144 – 148.
4. Kazantzis G. Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism / G. Kazantzis // *Biometals*. – 2008. – Vol. 17(5). – P. 493–498.
5. Trzcinka-Ochocka M. The effects of low environmental cadmium exposure on bone density / M. Trzcinka-Ochocka, M. Jakubowski, W. Szymczak [et al.] // *Environ. Res.* – 2010. – Vol. 110(3). – P. 286–293.
6. Антоняк Г. Л. Кадмій в організмі людини і тварин. II. Вплив на функціональну активність органів і систем / Г. А. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. П. Білецька [та ін.] // *Біологічні студії*. – 2010. – Т. 4., № 3. – С. 125–136.
7. Arora M. Association of environmental cadmium exposure with periodontal disease in U.S. adults. / Arora M., Weuve J., Schwartz J. [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2009. – N 117(5). – P. 739–744.
8. Олійник В. А. Системна патологія кісткової тканини при захворюваннях щитоподібної залози: клініка, діагностика, профілактика і лікування: Огляд літератури та власні дані / В. А. Олійник, В. В. Поворознюк, Г. М. Терехова // *Ендокринологія*. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 257–273.
9. Витяг з закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» / *Морфологія*. – 2010. – Т. IV, № 2. – С. 73–75.
10. Heavy metal lead exposure, osteoporotic-like phenotype in an animal model, and depression of Wnt signaling / E. E. Beier, J. R. Maher, T. J. Sheu [at al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2013. – Vol. 121, No 1. – P. 97 – 104.

References

1. Povorozniuk V. V. Osteoporosis and biochemical markers of bone tissue metabolism / V. V. Povorozniuk // *Laboratory Diagnostics*. – 2008. – No 1. - pp. 53-61. (in Ukrainian)
2. Luchynskyy M. A., Ostapko O. I., Luchynska Y. I. Features of dental disease and its formation in children which living in different environmental conditions: (Literature review) // *Clinical Dentistry*. – 2014. – No 1. – pp. 35-41. (in Ukrainian)
3. Golovkova T. A. Harmful effects of the environment xenobiotics on the human body / T. A. Golovkova // *Actual problems of transport medicine*. – 2016. – No 3 (45). – pp. 144 – 148.
4. Kazantzis G. Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism / G. Kazantzis // *Biometals*. – 2008. – Vol. 17, No 5. – pp. 493–498.
5. Trzcinka-Ochocka M. The effects of low environmental cadmium exposure on bone density / M. Trzcinka-Ochocka, M. Jakubowski, W. Szymczak [et al.] // *Environ. Res.* – 2010. – Vol. 110, No 3. – pp. 286–293.
6. Antoniak G. L., Babych N. O., Biletska L. P. [et al.] Cadmium in animal and human body. II. Cadmium effect on the functional activity of organs and systems. / G. A. Antoniiak, N. O. Babich, L. P Biletska [et al.] // *Biological Studies*. – 2010. – Vol. 4, No 3. – pp. 125-136. (in Ukrainian)
7. Arora M. Association of environmental cadmium exposure with periodontal disease in U.S. adults. / Arora M., Weuve J., Schwartz J. [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2009. – Vol. 117, No 5, pp. 739–744.
8. Oleinik V. A. Systemic pathology of bone tissue at diseases of the thyroid gland: clinical features, diagnosis, prevention and treatment: Literature review and own data / V. A. Oleinik, V. V. Povorozniuk, G. M. Terekhova // *Endocrinology* . – 2012. – Vol 7, № 2. – pp. 257-273.
9. Extract from the Law of Ukraine "On protection of animals from cruelty" / *Morphology*. – 2010. – Vol IV, No 2. – pp. 73-75. (in Ukrainian)
10. Heavy metal lead exposure, osteoporotic-like phenotype in an animal model, and depression of Wnt signaling / E. E. Beier, J. R. Maher, T. J. Sheu [at al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2013. – Vol. 121, No 1. – P. 97 – 104.