

# Gęstość mineralna tkanki kostnej oraz poziom osteokalcyny u kurcząt brojlerów w następstwie intoksykacji siarczanem glinu

MAREK BIEŃKO, RADOSŁAW PIOTR RADZKI, IWONA PUZIO,  
MAŁGORZATA KAPICA, TADEUSZ STUDZIŃSKI

Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Bieńko M., Radzki R. P., Puzio I., Kapica M., Studziński T.

## Bone mineral density and osteocalcin levels in the blood plasma of broiler chickens experiencing aluminum sulphate intoxication

### Summary

The aim of the study was to determine the effects of aluminum sulphate on bone mineral density (BMD) and osteocalcin levels in broiler chickens when added to their drinking water during the first 4 weeks of life. The experiment was carried out on 80 Hybro breed broiler chickens of both sexes from the second day of life to age 4 weeks. During the experiment the animals had free access to feed and water containing 3 different doses of aluminum sulphate solution: 1 (group A), 2 (group B) and 3 gram per liter (group C). At the end of experiment the chickens were slaughtered and femora and blood were collected for further analysis. The bone mineral density was measured by X-ray using computer software Radiograph (Windows). The osteocalcin level in the blood plasma was measured using a commercial RIA kit (Incstar, USA) on a gamma radioimmunoassay counter (Packard Canberra). Aluminum sulphate in the drinking water significantly decreased the body weight and bone mass of all the experimental groups in comparison to the control one. The bone mineral density of female's femora in the experimental groups was significantly lower than in the control group: 0.59 – control; 0.5 – group A; 0.49 – group B and 0.46 g/cm<sup>2</sup> group C respectively. The BMD values of male femora were also lower in the experimental groups although the difference was not significant. Aluminum sulphate significantly decreased the osteocalcin level in female blood plasma in all groups compared to the control one: 10.55 – control; 7.43 – group A; 7.82 – group B; 7.31 ng/ml – group C respectively. The same tendency was observed in male blood plasma: 8.73 – control; 7.25 – group A; 7.98 – group B; 7.57 ng/ml – group C respectively.

The results of the experiment proved the negative influence of aluminum sulphate solutions when added to drinking water. It resulted in a significant decrease in body mass and bone weight in the examined broiler chickens and contributed to disturbances in bone mineral processes which was apparent in the decrease in bone mineral density and lower levels of osteocalcin – osteoblast's activity marker.

**Keywords:** chickens, aluminum sulphate, bone mineral density, osteocalcin

Do niedawna glin nie budził większego zainteresowania toksykologii środowiskowej, chociaż należy do grupy najpopularniejszych pierwiastków skorupy ziemskiej, stanowiąc element struktury większości skał, minerałów pierwotnych i wtórnych. Glin jako jeden z podstawowych pierwiastków biosfery towarzyszy zwierzętom i człowiekowi od początku ich istnienia. Jednakże dopiero w 1827 r. Friedrich Wöhler wyodrębnił glin metaliczny. W okresie międzywojennym jego produkcja osiągnęła znaczne rozmiary, co było związane z dynamicznym rozwojem przemysłu lotniczego oraz masowym wytwarzaniem z tego metalu przedmiotów codziennego użytku. Po drugiej wojnie światowej zwiększające się zanieczyszczenie środowiska, wywołane intensywnym przyrostem emisji do powietrza kwaśnych tlenków azotu i siarki (kwaśne deszcze, smog fotochemiczny) powstających przy

spalaniu węgla, paliw pędnych w przemyśle energetycznym, hutniczym i ciepłowniczym, jak również emitowanie spalin przez transport samochodowy i lotniczy, spowodowało uwolnienie dużych ilości toksycznych form glinu w glebie i wodzie pitnej (1, 19, 25, 26, 31).

Głównym źródłem związków glinu w środowisku zwierząt i człowieka jest obecność tego pierwiastka w żywności. Glin i jego związki występują w żywności w sposób „naturalny” (na zasadzie akumulacji w roślinach stanowiących przyprawy naturalne, herbacie itp.), jak również pod postacią dodatków, np. w proszku do pieczenia. Glin może również dostawać się do potraw z naczyń aluminiowych w czasie pieczenia, smażenia i gotowania. Głównym źródłem glinu „pokarmowego” są ziarna zbóż (pszenica, jęczmień), sery żółte (twarde i topione) i sól, a oprócz nich wysoką

zawartością naturalną tego pierwiastka charakteryzują się zioła, przyprawy naturalne (majeranek 500-1000 mg/kg, pieprz czarny 48-237 mg/kg) oraz herbata (suche liście zawierają do 3000 mg Al/kg) (1, 9-11, 15, 24, 32, 33). W większości naturalnych środków spożywczych zawartość glinu wynosi poniżej 10 mg/kg – najczęściej 0,1-1,0 mg/kg. Dodatkowym źródłem glinu w żywności są jego sole stosowane w wielu krajach w celu poprawy właściwości smakowych produktów lub ułatwienia ich przetworstwa. Komitet Ekspertów FAO/WHO ds. Dodatków do Żywności dopuścił do stosowania cały szereg związków glinu, z czego niektóre są również stosowane w Polsce jako dodatki do żywności i pasz (mających działanie spulchniające, stabilizujące pH, zapobiegające zbrylaniu się). Także powszechne stosowanie nasion soi w żywieniu zwierząt stanowi dodatkowe źródło glinu ze względu na wysoką zawartość tego pierwiastka w granicach 13-22 mg/kg nasion. Związki glinu zawarte są również w wodzie pitnej. Powszechnie stosowany jest siarczan glinu do oczyszczania wody, jako środek wytrącający substancje organiczne, które zmieniają barwę i smak wód powierzchniowych.

Dostając się do organizmu glin powoduje zaburzenia w gospodarce wapniowej i fosforowej, doprowadza do uszkodzenia układu kostnego, którego najbardziej charakterystyczną cechą jest osteomalacja.

W ostatnich latach stwierdzono istnienie genetycznych predyspozycji do występowania zaburzeń wzrostu i mineralizacji kości u ptaków, objawiających się utrudnionym utrzymywaniem postawy ciała i ograniczoną sprawnością ruchową. Duże znaczenie w występowaniu tych zaburzeń odgrywa szybkie tempo wzrostu, rodzaj i sposób żywienia, zanieczyszczenie paszy i wody oraz warunki hodowlane. Ciekawy również jest fakt, że problem osteoporozy nie dotyczy wyłącznie ludzi, ale również może być ona jedną z chorób występujących u ptaków (12-14, 21, 22, 27-30).

Ze względu na pokarmową drogę dostawiania się glinu do organizmu podjęte badania miały na celu określenie wpływu podawania w wodzie pitnej siarczanu glinu na gęstość mineralną tkanki kostnej kości udowej kurcząt brojlerów, w układzie rozwojowym, w okresie od 2. doby do 4. tygodnia życia. Zwierzęta te charakteryzują się szybkim tempem rozwoju, co pozwala na uchwycenie, w stosunkowo krótkim czasie, zmian zachodzących w układzie kostnym.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 80 kurczętach brojlerach, obu płci, rasy Hybro pochodzących z wylęgarni drobiu w Turcie koło Lublina. Ptaki przebywały w standardowych warunkach chowu na fermie drobiu. Jako klatki hodowlane wykorzystano specjalnie skonstruowane boksy o wymiarach 1,2 na 1,2 metra usytuowane w kurniku bezpośrednio na podłożu z trocin razem z resztą stada liczącego około 15 tysięcy sztuk. Obsada na jeden boks liczyła 10

sztuk jednakowej płci. Czas doświadczenia obejmował okres od 2. doby do 4. tygodnia życia. Kurczęta karmiono *ad libitum* mieszankami pełnoporcjowymi stosowanymi standardowo w tuczu przemysłowym. Kurczętom zapewniono stały dostęp do czystej wody pitnej dla grup kontrolnych i wody z dodatkiem siarczanu glinu dla grup doświadczalnych. Stosowano 3 różne dawki siarczanu glinu na 1 litr wody, tj. 1 (grupa A), 2 (grupa B) i 3 (grupa C) gramy. Wodę czystą oraz z dodatkiem siarczanu glinu podawano z wyskalowanych poidełek szklanych o pojemności 1,25 dm<sup>3</sup>. Wodę dla grup kontrolnych, jak i doświadczalnych wymieniano codziennie na świeżą, kontrolując jednocześnie jej dobowe spożycie. Pozwoliło to na określenie średniego tygodniowego spożycia glinu przez jedno kurczę w grupach doświadczalnych (tab. 1).

Tab. 1. Średnie tygodniowe spożycie glinu (w gramach) na kurczę w grupach doświadczalnych

Tydzień życia	Grupa A	Grupa B	Grupa C
1	0,04	0,08	0,17
2	0,09	0,17	0,37
3	0,14	0,26	0,57
4	0,18	0,35	0,68

W wieku 4 tygodni ubojowi poddano kurki i kogutki grup doświadczalnych i grup kontrolnych. Przed ubojem kurczęta ważono, natomiast po uboju pobierano krew oraz kości udowe, które w toku poprzednich badań okazały się najbardziej reprezentatywne do tego typu analiz. Kości przeznaczone do analizy gęstości mineralnej oczyszczano dokładnie z tkanek miękkich i na czas przechowywania poddawano mrożeniu w temperaturze: -25 do -30°C. Krew od zwierząt pobierana była do próbek z heparyną. Po odwirowaniu osocze krwi zamrażano do dalszych oznaczeń.

**Analiza gęstości mineralnej tkanki kostnej (BMD – Bone Mineral Density).** W badaniach tych zastosowano technikę komputerowej analizy zdjęć RTG z wykorzystaniem analitycznego programu komputerowego Radiograph pracującego w środowisku Windows. Program ten wykorzystuje zasadę fotodensytometrii, pozwalając na pomiar zawartości minerałów w tkance kostnej zapisanej na standardowym radiogramie z klinem wzorcowym wykonanym z czystego aluminium. Na podstawie pomiarów klina program generuje krzywą charakterystyczną filmu, a następnie oblicza grubość aluminium odpowiadającą danym stopniom zaciernienia i porównuje z zaciernieniem obszaru zaznaczonego na kości. Mając wszystkie dane, program oblicza zawartość minerału w gramach na cm<sup>2</sup> (5-7). Radiogramy zostały wykonane na tym samym aparacie Multax 320, przy zachowaniu stałych warunków ekspozycji (40 kV +2-3 i 50 mAs) wywoływania. Radiogramy wykonano na jednej serii filmów (Typon Typox RP) oraz wywoływano ręcznie, utrzymując stałą temperaturę odczynników.

**Oznaczenia radioimmunologiczne.** W osoczu krwi oznaczono metodą radioimmunologiczną osteokalcynę. Oznaczenia wykonano przy pomocy zestawu firmy Inestar (USA) przy użyciu licznika promieniowania gamma (Packard Canberra).



Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem testu t-Studenta. Oceniono istotność różnic średnich wartości badanych parametrów pomiędzy grupami doświadczalnymi, osobno dla obu płci.

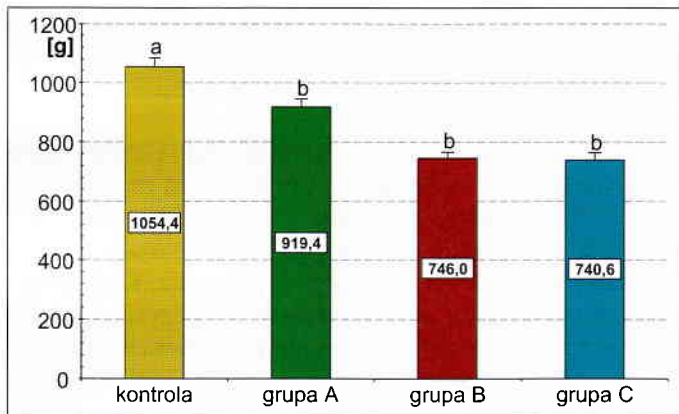
### Wyniki i omówienie

Glin jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych pierwiastków w skorupie ziemskiej. W centrum zainteresowania chemików, biologów i toksykologów znalazł się dopiero w ostatnich 10 latach. Przyczyną tego, z jednej strony, jest nadmierna jego koncentracja w środowisku, będąca rezultatem działań człowieka, z drugiej zaś wyniki wielu badań, jednoznacznie wskazujące na toksyczne działanie tego pierwiastka (11, 19, 26).

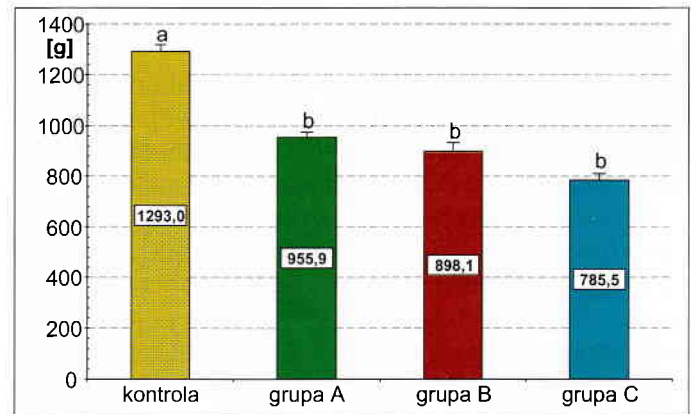
Poziom glinu w produktach pochodzenia zwierzęcego zależy od jego zawartości w paszy i wodzie do picia oraz zdolności tkanek do kumulowania tego pierwiastka. Najwyższe stężenie glinu stwierdza się w tych ujęciach wody, w których siarczan glinu używany jest

jako koagulant do jej uzdatniania. Związek ten stosowany jest do oczyszczania wody z zanieczyszczeń organicznych w wielu krajach, w tym również i w Polsce. Glin może się także przedostawać do wody lub produktów spożywczych na drodze uwalniania z opakowań aluminiowych. Problem uwalniania dotyczy również pojenia zwierząt z aluminiowych poidełek.

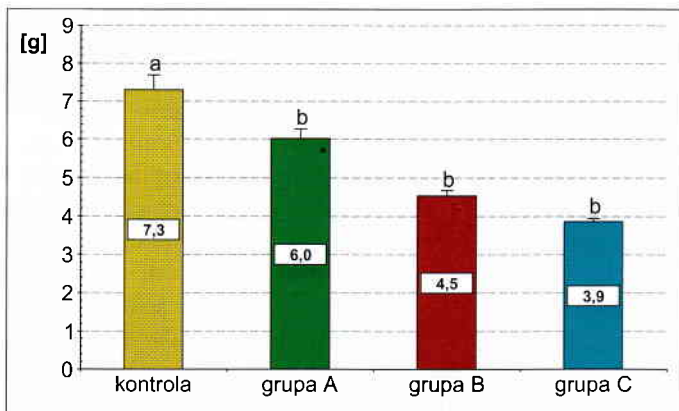
Niekorzystne oddziaływanie glinu na rozwijający się młody organizm uwidoczniło się obniżeniem masy ciała kurcząt obu płci we wszystkich grupach doświadczalnych w porównaniu z grupami kontrolnymi. Ubytek masy ciała u kurek otrzymujących najwyższą dawkę sięgnął 30%, a u kogutków prawie 40% w porównaniu z grupami kontrolnymi (ryc. 1, 2). Równie niekorzystne oddziaływanie siarczanu glinu podawanego w wodzie do picia przejawiało się w istotnym zmniejszeniu masy badanych kości udowych u obu płci. Spadek masy kości udowej kurek otrzymujących najwyższą dawkę glinu wynosił aż 46,6% (ryc. 3), a u kogutków 35,3% (ryc. 4) w porównaniu z grupami kontrolnymi.



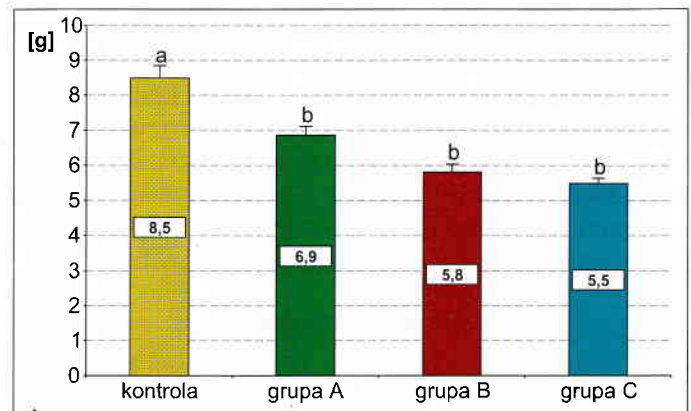
Ryc. 1. Masa ciała kurek grupy kontrolnej oraz grup doświadczalnych wyrażona w gramach (g). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



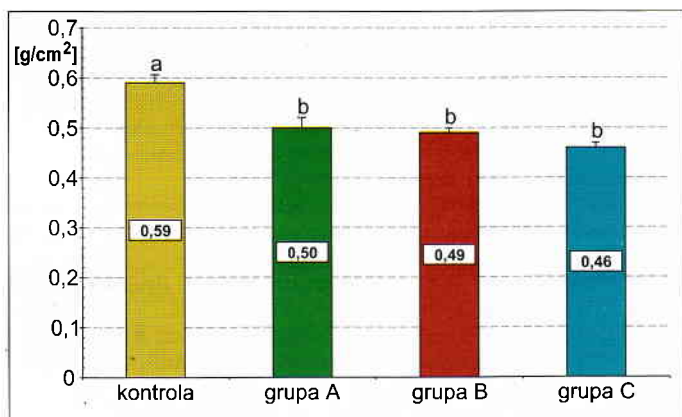
Ryc. 2. Masa ciała kogutków grupy kontrolnej oraz grup doświadczalnych wyrażona w gramach (g). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



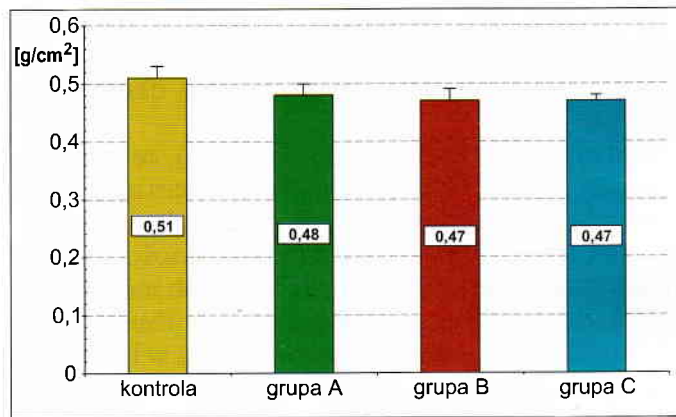
Ryc. 3. Masa kości udowej kurek grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażona w gramach (g). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



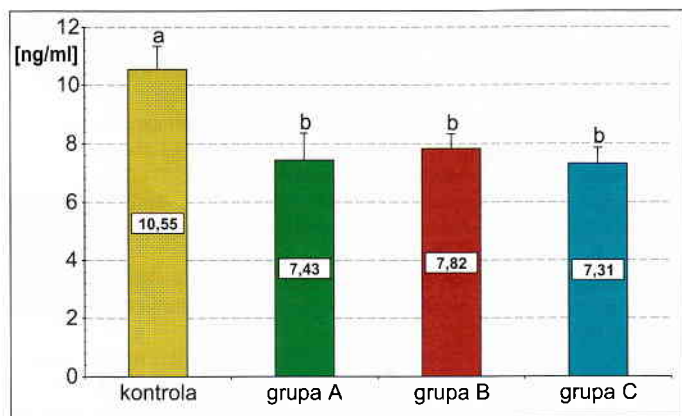
Ryc. 4. Masa kości udowej kogutków grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażona w gramach (g). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



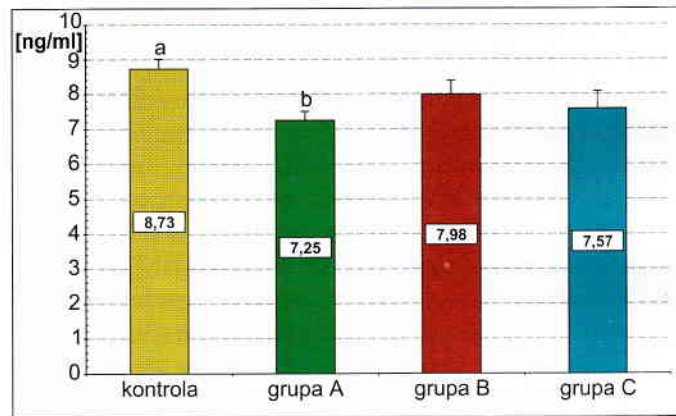
Ryc. 5. Gęstość mineralna bliższej części przynasadowej kości udowej kurek grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażona w gramach/centymetr<sup>2</sup> (g/cm<sup>2</sup>). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



Ryc. 6. Gęstość mineralna bliższej części przynasadowej kości udowej kogutków grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażona w gramach/centymetr<sup>2</sup> (g/cm<sup>2</sup>). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



Ryc. 7. Stężenie osteokalcyny w osoczu krwi kurek grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażone w nanogramach/mililitr (ng/ml). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych



Ryc. 8. Stężenie osteokalcyny w osoczu krwi kogutków grupy kontrolnej i grup doświadczalnych wyrażone w nanogramach/mililitr (ng/ml). Linie na szczytach kolumn przedstawiają błąd standardowy średniej ( $\bar{x} \pm S.E.$ ). Literami a i b oznaczono różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) między średnimi wartościami grupy kontrolnej i grup doświadczalnych

Toksyczne oddziaływanie glinu na układ kostny przejawia się występowaniem osteomalacji, charakteryzującej się rozmiękaniem kości i skłonnością do złamań, jako konsekwencja wypierania przez jony glinu jonów wapnia (1). Choroba ta opisana została już w 1969 r. w Anglii u pacjentów przewlekle dializowanych i określono ją skrótem ABD (Aluminum Bone Disease – aluminiumowa choroba kości). U chorych na ABD masa kości jest mniejsza niż u ludzi o zdrowych nerkach i nie dializowanych. Występuje wtedy osłabienie czynności mięśni szkieletowych, miopatia, bóle kostno-stawowe oraz odwapnienie kości, nie reagujące na leczenie witaminą D<sub>3</sub>[1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] (3, 8, 17, 20, 25, 34). Zmiany wywołane glinem obserwowano także u zwierząt, w tym i zarodków kurzych, u których stwierdzono zaburzenia w prawidłowym rozwoju układu kostno-szkieletowego (2, 13). Odkładanie się glinu w kościach może zatem prowadzić do upośledzenia ich mineralizacji, rozwoju osteomalacji oraz

zaburzeń tworzenia tkanki kostnej. Glin hamuje mineralizację *in vitro* i *in vivo* (18).

W okresie rozpowszechnionego podawania soli glinu (wiązących fosforany w przewodzie pokarmowym i zmniejszających w ten sposób ich wchłanianie) pacjentom z niewydolnością nerek i z usuniętymi przytarczycami obserwowano w kościach zmiany typu osteomalacyjnego, nie poddające się leczeniu witaminą D<sub>3</sub> i jej czynnymi metabolitami. Objawiały się one samoistnymi złamaniami kości (18, 23). Glin, jak i jego związki stosowane w lekach, uważany jest również za jeden z czynników ryzyka w powstawaniu osteoporozy (35).

Przeprowadzona komputerowa analiza gęstości mineralnej kości wykazała, że stosowanie siarczanu glinu w wodzie do picia obniżyło, w sposób istotny, gęstość mineralną tkanki kostnej bliższej części przynasadowej kości udowej kurek o 15,2% (grupa A), 16,9% (grupa B) i 22% (grupa C) w porównaniu z gru-



pa kontrolną (ryc. 5). Zmiany o podobnej tendencji, jednakże nieistotne statystycznie, obserwowano u kogutków. Wartości BMD były niższe o około 6-7% (ryc. 6).

Badania ostatnich lat wykazały (4, 16), że osteokalcyna jest czułym i specyficznym markerem aktywności osteoblastów, dlatego też radioimmunologiczna analiza zawartości tego białka stanowi wartościowy test diagnostyczny w przebiegu wielu chorób metabolicznych kości z osteoporozą włącznie. Obniżenie poziomu osteokalcyny obserwowano również w badaniach własnych. Zmiany te u kurek (istotne statystycznie) wynosiły odpowiednio: 29,5% (grupa A), 25,8% (grupa B) i 30,7% (grupa C) w stosunku do grupy kontrolnej (ryc. 7). Analiza poziomu osteokalcyny u kogutków również wykazała spadek stężenia tego markera o 16,9% (grupa A), 8,6% (grupa B) i 13,3% (grupa C) w stosunku do kontroli (ryc. 8).

Uzyskane wyniki badań dowodzą niekorzystnego działania siarczanu glinu, stosowanego jako dodatek do wody pitnej. Negatywne działanie glinu w wieku 4 tygodni przejawia się w istotnym zmniejszeniu się masy ciała i masy kości udowej badanych kurcząt. Zaburzeniom ulegają procesy mineralizacyjne tkanki kostnej, co przejawia się w obniżeniu poziomu osteokalcyny – markera aktywności osteoblastów.

Siarczan glinu nie pozostał obojętny w odniesieniu do gęstości mineralnej tkanki kostnej (BMD) części przynasadowej kości udowej badanych zwierząt. Bardziej wrażliwe na niekorzystne działanie glinu okazały się kurki, gdzie zmiany sięgnęły 22% w grupie otrzymującej najwyższą dawkę. Podobna tendencja, jednakże słabsza i nieistotna statystycznie, miała miejsce w przypadku kości udowej kogutków, co może sugerować mniejszą wrażliwość samców na toksyczne działanie podawanego siarczanu glinu, mimo niekorzystnych zmian dotyczących masy ciała, długości i masy kości, jak i poziomu osteokalcyny.

Szybkie tempo wzrostu kurcząt brojlerów, łatwość hodowli i pozyskania materiału stwarza możliwość wykorzystania tego gatunku jako modelu w badaniach wpływu takich czynników środowiskowych, jak glin, na wzrost całego organizmu, a także wzrost, rozwój i mineralizację układu kostno-szkieletowego.

## Piśmiennictwo

- Alfrey A. C.: Aluminum intoxication. *N. Engl. J. Med.* 1984, 310, 1113-1115.
- Blahos J., Care A. D., Abbas S. K., Corlett S. C.: Aluminum-induced decrease in osteocalcin levels in the chick. *Horm. Metab. Res.* 1991, 23, 50-51.
- Canmata Andia J. B.: Aluminium toxicity: its relationship with bone and iron metabolism. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996, 11, Suppl. 3, 69-73.
- Cosman F., Nieves J., Wilkinson C., Schnering D., Shen V., Lindsay R.: Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover. *Calcif. Tissue Int.* 1996, 58, 236-243.
- Czerwinski E.: Diagnosis of osteoporosis. *Przegl. Lek.* 1994, 51, 391-397.
- Czerwinski E.: Radiologic diagnosis and densitometry of osteoporosis. *Przegl. Lek.* 1997, 54, 220-225.
- Czerwinski E., Hubner K., Wojnar L., Bajer M.: Computer analysis of the radiographic image of bones and joints. *Przegl. Lek.* 1997, 54, 257-259.
- Denton J., Freemont A. J., Ball J.: Detection and distribution of aluminium in bone. *J. Clin. Pathol.* 1984, 37, 136-142.
- Domingo J. L.: Metal-induced developmental toxicity in mammals: a review. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1994, 42, 123-141.
- Eastwood J. B., Levin G. E., Pazianas M., Taylor A. P., Denton J., Freemont A. J.: Aluminium deposition in bone after contamination of drinking water supply. *Lancet.* 1990, 336, 462-464.
- Elinder C. G., Ahrengart L., Lidums V., Pettersson E., Sjogren B.: Evidence of aluminium accumulation in aluminium welders. *Br. J. Ind. Med.* 1991, 48, 735-738.
- Elliot M. A., Edwards H. M. Jr.: Some effects of dietary aluminum and silicon on broiler chickens. *Poult. Sci.* 1991, 70, 1390-1402.
- Firling C. E., Severson A. R., Hill T. A.: Aluminum effects on blood chemistry and long bone development in the chick embryo. *Arch. Toxicol.* 1994, 68, 541-547.
- Freedman B. D., Gay C. V., Leach R. M.: Avian tibial dyschondroplasia. II. Biochemical changes. *Am. J. Pathol.* 1985, 119, 191-198.
- Fulton B., Jeffery E. H.: Absorption and retention of aluminum from drinking water. 1. Effect of citric and ascorbic acids on aluminum tissue levels in rabbits. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1990, 14, 788-796.
- Garnero P., Delmas P. D.: New Developments in Biochemical Markers for Osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* 1996, 59, 2-9.
- Goodman W. G., Duarte M. E.: Aluminum: effects on bone and role in the pathogenesis of renal osteodystrophy. *Miner. Electrolyte Metab.* 1991, 17, 221-232.
- Goodman W. G., O'Connor J.: Aluminum alters calcium influx and efflux from bone in vitro. *Kidney Int.* 1991, 39, 602-607.
- Goyer R. A.: Toxic and essential metal interactions. *Annu. Rev. Nutr.* 1997, 17, 37-50.
- Heaf J. G., Podenphant J., Andersen J. R.: Bone aluminum deposition in maintenance dialysis patients treated with aluminium-free dialysate: role of aluminium hydroxide consumption. *Nephron.* 1986, 42, 210-216.
- Huff W. E., Moore P. A. Jr., Balog J. M., Bayyari G. R., Rath N. C.: Evaluation of the toxicity of alum (aluminum sulfate) in young broiler chickens. *Poult. Sci.* 1996, 75, 1359-1365.
- Hussein A. S., Cantor A. H., Johnson T. H., Yokel R. A.: Effect of dietary aluminum sulfate on calcium and phosphorus metabolism of broiler chicks. *Poult. Sci.* 1990, 69, 985-991.
- Itel T. H., Gladziwa U., Sieberth H. G.: Synergistic effect of 1,25-vitamin D<sub>3</sub> and fluoride on bone aluminum accumulation. *Bone.* 1993, 14, 427-432.
- Kandiah J., Kies C.: Aluminum concentrations in tissues of rats: effect of soft drink packaging. *Biometals* 1994, 7, 57-60.
- Kerr D., Ward K., Ellis A., Simpson-Parkinson S.: Aluminium intoxication in renal disease. *John Wiley&Sons, UK* 1992.
- Kloppel H., Fliedner A., Kordel W.: Behaviour and ecotoxicology of aluminium in soil and water-review of the scientific literature. *Chemosphere* 1997, 35, 353-363.
- Knopov V., Hadash D., Hurwitz S., Leach R. M., Pines M.: Gene expression during cartilage differentiation in turkey tibial dyschondroplasia, evaluated by in situ hybridization. *Avian Dis.* 1997, 41, 62-72.
- Knopov V., Leach R. M., Barak-Shalom T., Hurwitz S., Pines M.: Osteopontin gene expression in avian tibial dyschondroplasia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1995, 760, 350-353.
- Leach R. M. Jr., Nesheim M. C.: Further studies on tibial dyschondroplasia (cartilage abnormality) in young chicks. *J. Nutr.* 1972, 102, 1673-1680.
- Leach R. M. Jr., Rosenblum C. I., Amman M. J., Burdette J.: Broiler chicks fed low-calcium diets. 2. Increased sensitivity to copper toxicity. *Poult. Sci.* 1990, 69, 1905-1910.
- Manzo L., Costa L. G., Tonini M., Minoia C., Sabbioni E.: Metabolic studies as a basis for the interpretation of metal toxicity. *Toxicol. Lett.* 1992, 64-65, 677-686.
- Senczuk W.: Toksykologia – podręcznik dla studentów farmacji. PZWL, Warszawa 1994.
- Szteke B.: Chrom, nikiel i glin w środowisku – problemy ekologiczne i metaboliczne. Ossolineum 1993.
- Walker G. S., Aaron J. E., Peacock M., Robinson P. J., Davison A. M.: Dialysate aluminium concentration and renal bone disease. *Kidney Int.* 1982, 21, 411-415.
- Wang G., Zhu P., Wang S.: The causes, diagnosis and treatment of aluminum toxicity in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *Zhonghua Nei Ke. Za Zhi.* 1996, 35, 36-40.

Adres autora: dr Marek Bieńko, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin;  
e-mail: markus@agros.ar.lublin.pl