

## Analiza domowych przetworów słomy makowej (tzw. „kompotów”). Część 2\* – wyznaczenie dawki LD<sub>50</sub> dla nieoczyszczonych i oczyszczonych próbek

### The analysis of the home-made poppy straw extracts (so-called “compote”). Part 2 – estimation of the LD<sub>50</sub> dose for non-purified and purified samples

Zofia Olszowy<sup>1 (a, b, d, f)</sup>, Rafał Celiński<sup>2 (a, c, d, e, f)</sup>, Rafał Skowronek<sup>2 (e, f)</sup>, Łukasz Paprotny<sup>3 (f)</sup>

<sup>1</sup> Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu.

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Z. Olszowy. Dyrektor IMPiZŚ: dr n. med. P.Z. Brewczyński

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach.

Kierownik Katedry: p.o. dr n. med. Cz. Chowaniec. Rektor Uczelni: prof. dr hab. n. med. P. Jałowiecki

<sup>3</sup> Zakład Zdrowia Środowiskowego i Epidemiologii, Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego w Sosnowcu.

Kierownik Zakładu: p.o. prof. dr hab. n. przyr. Jerzy Kwapuliński. Dyrektor IMPiZŚ: dr n. med. P.Z. Brewczyński

(a) opracowanie koncepcji i założeń

(d) badania laboratoryjne

(b) pozyskanie funduszy

(e) opracowanie statystyczne

(c) przygotowanie materiału do badań

(f) opracowanie tekstu i piśmiennictwa

\* Część 1 – patrz piśmiennictwo [2]

#### STRESZCZENIE

**Wstęp:** W poprzedniej pracy potwierdziliśmy obecność zanieczyszczeń mikrobiologicznych, nieorganicznych i organicznych w domowych przetworach słomy makowej – „kompocie”. Zanieczyszczenia te mogą wpływać na jego toksyczność, brak jednak odpowiednich badań eksperymentalnych. Autorzy postanowili opracować metodę oczyszczania „kompotu” oraz wyznaczyć i porównać dawkę LD<sub>50</sub> dla jego postaci oczyszczonej, nieoczyszczonej i standardowego roztworu morfiny. **Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiły wyciągi ze słomy makowej dostarczone przez organy ścigania. Steżenia opiatów w „kompocie” nieoczyszczonym oznaczono za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (HPLC-MS). 1000 ml zabezpieczonego „kompotu” zostało oczyszczone z balastu roślinnego i innych zanieczyszczeń. LD<sub>50</sub> wyznaczono metodą Litchfielda-Wilcoxon w odniesieniu do morfiny. W doświadczeniu wykorzystano 36 samców szczurów Sprague-Dawley, w wieku 3 miesięcy, o masie ciała 200–250 g. Zwierzętom podano jednorazowo drogą dootrzewnową odpowiednie wyciągi w trzech zróżnicowanych dawkach. **Wyniki:** Obliczone dawki LD<sub>50</sub> ostrej toksyczności dootrzewnowej wyniosły: dla wyciągu nieoczyszczonego – 83,8 mg/kg m.c.; dla wyciągu oczyszczonego – 51,9; dla roztworu chlorowodoru morfiny – 61,1. **Wnioski:** Najniższa wartość LD<sub>50</sub> dla „kompotu” oczyszczonego świadczy o jego większej toksyczności ostrej względem „kompotu” nieoczyszczonego i roztworu morfiny. Opracowana metoda oczyszczania „kompotu” pozwala na redukcję zanieczyszczeń, dlatego może być stosowana w badaniach doświadczalnych obu postaci narkotyku.

**Słowa kluczowe:** „polska heroina”, toksyczność ostra, zanieczyszczenia, szczur

#### ABSTRACT

**Introduction:** In the previous paper we confirmed the presence of microbiological, inorganic and organic pollutants in home-made preserves of the poppy straw extracts – “compote”. These pollutants may influence its toxicity, however, are lacking of proper experimental studies. The authors have decided to develop the method of “compote” treatment and to determine and to compare LD<sub>50</sub> dose for its treated form, raw form and standard morphine solution. **Materials and methods:** The research material was poppy straw extracts delivered by law enforcement authorities. Concentration of opiates in raw “compote” was determined using the high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS). Secured “compote” (1000 ml) was cleaned from plant’s ballast and other contaminations. LD<sub>50</sub> was determined according to Litchfield-Wilcoxon method with reference to morphine. In the research thirty six 3-months-old, 200–250 g, male Sprague-Dawley rats were used. The animals were injected intraperitoneally once with appropriate extracts in three diversified doses. **Results:** Calculated LD<sub>50</sub> doses of acute intraperitoneal toxicity were: for the raw extract – 83.8 mg/kg body weight; for treated extract – 51.9; for morphine hydrochloride’ solution – 61.1. **Conclusions:** The lowest value of LD<sub>50</sub> for treated “compote” is attesting of its acute toxicity in comparison to the raw “compote” and morphine solution. The developed method of treating the “compote” allows for the reduction of pollutants, so it may be applied in the experimental research of both forms of drugs.

**Key words:** “Polish heroin”, acute toxicity, impurities, rat

## WSTĘP

W każdym przypadku nadużywania substancji psychoaktywnej powinno dążyć się do ustalenia jej pełnej charakterystyki farmakologiczno-toksykologicznej. Jednym z elementów takiej oceny jest określenie podstawowego wskaźnika toksyczności ostrej, tzw. medialnej dawki śmiertelnej (ang. median lethal dose, LD<sub>50</sub>), tzn. obliczonej pojedynczej ilości substancji, która powoduje śmierć 50% badanych zwierząt doświadczalnych, wyrażonej w postaci masy substancji badanej przypadającej na jednostkę masy badanego zwierzęcia (najczęściej w mg/kg).

Narkotykiem opiatowym charakterystycznym dla obszaru Europy Środkowej i Wschodniej, cieszącym się mniejszą niż dawniej popularnością, ale nadal obecnym na krajowym rynku narkotykowym, jest „kompot” nazywany również „polską heroiną” (domowe przetwory słomy makowej) [1]. Co zaskakujące, pomimo długiej obecności na rynku, narkotyk ten do tej pory nie został dostatecznie scharakteryzowany.

W naszej poprzedniej pracy, w „kompocie” potwierdziliśmy obecność zanieczyszczeń mikrobiologicznych, nieorganicznych i organicznych, tj. drożdżaków *Candida*, zanieczyszczeń metalicznych, pestycydów oraz zanieczyszczeń lotnych [2]. Zanieczyszczenia te mogą wpływać na toksyczność ostrą „kompotu”, dlatego też, wobec braku danych eksperymentalnych na ten temat, postanowiliśmy najpierw opracować metodę oczyszczania „kompotu”, a następnie wyznaczyć i porównać ze sobą LD<sub>50</sub> dla „kompotu” oczyszczonego, nieoczyszczonego i standardowego roztworu morfiny.

## MATERIAŁ I METODY

### Analiza „kompotu” nieoczyszczonego

W badaniach wykorzystano domowe wyciągi ze słomy makowej (81 dowodów rzeczowych), zebrane i połączone w jedną „uśrednioną próbę kompotu” o objętości 2000 ml. Materiał ten był dostarczany do Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej w Katowicach przez organy ścigania, w związku ze wszczęciem spraw karnych o naruszenie przepisów obowiązującej ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii.

Stężenia opiatów w „kompocie” nieoczyszczonego oznaczono wysoce czułą i selektywną metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z detekcją mas (HPLC-MS). Parametry kolumny oraz przedkolumny chromatograficznej prezentuje tabela I. Zastosowano system gradientowego przepływu fazy

ciekłej. Fazy ruchome oraz ich udział procentowy przedstawiono w tabeli II. Detekcję badanego związku przeprowadzono za pomocą spektrometru masowego z pułapką jonową w opcji jonizacji w polu elektrycznym – elektrosprej (ESI). Warunki pracy elektrospreju zawiera tabela III. Parametry walidacyjne dla alkaloidów „kompotu” i klomipraminy, która była substancją wzorcową, zaprezentowano w tabeli IV.

Tab. I. Parametry kolumny oraz przedkolumny chromatograficznej

Tab. I. Parameters of the chromatographic column and pre-column

Parametry	Kolumna	Przedkolumna
Nazwa	Hypersil	Hypersil
Wypełnienie	BDS C-18	BDS C-18
Długość	150 mm	20 mm
Średnica wewnętrzna	2,1 mm	2 mm
Średnica ziaren wypełnienia	5 µm	5 µm

Tab. II. Udział procentowy faz ruchomych w trakcie trwania analizy

Tab. II. The percentage of mobile phases during analysis

Faza A – mrówczan amonu 0,05 mol/l		
Faza B – 90% acetonitrylu + 10% fazy A		
Prędkość przepływu – 0,3 ml/min		
Czas [min]	Faza A [%]	Faza B [%]
0	95	5
2	95	5
30	30	70
32	30	70
40	95	5

Tab. III. Warunki pracy elektrospreju

Tab. III. Working conditions of the electrospray

Przepływ azotu – gazu nośnego/ionizującego	60 p.s.i.
Gaz pomocniczy	0.0 p.s.i.
Napięcie igły rozpylacza	4,50 kV
Temperatura kapilary	200° C
Napięcie kapilary	10,5V
Napięcie fragmentatora	30V
Zakres analizowanych mas	100–700 m/z
Tryb jonizacji	dotatnia

Tab. IV. Parametry walidacyjne dla alkaloidów „kompotu” i klomipraminy

Tab. IV. Validation parameters for alkaloids of the “compote” and clomipramine

Ksenobietyk	Kryterium							
	Zakres liniowości [mg/l]	LOQ [mg/l]	LOD [mg/l]	Precyzja		Bias/dokładność	Odzysk	RSD
				powtarzalność	odtwarzalność			
Morfina	0,1–2	0,1	0,02	3,36–12,28%	5,45–10,85%	–3,45–9,78%	72,15 ± 9,26%	4,34–10,12%
6-MAM	0,1–2	0,1	0,02	3,78–10,15%	5,65–12,20%	3,60–12,20%	74,46 ± 10,18%	3,88–9,65%
Kodeina	0,1–2	0,1	0,01	1,25–5,60%	2,39–7,15%	–2,15–7,80%	93,33 ± 5,45%	3,15–10,18%
Papaweryna	0,1–2	0,1	0,01	1,15–2,2	2,2–3,78	–1,17–4,3	86,25 ± 2,5	3,42–9,9
Noskapina	0,1–2	0,1	0,01	1,13–2,6	1,34–2,1	–0,6–9,12	91,77 ± 3,1	2,8–9,78
Narceina	0,1–2	0,1	0,01	0,96–2,1	0,98–2,5	2,7–9,18	91,7 ± 3,46	3,5–7,78
Tebaina	0,1–2	0,1	0,01	1,45–4,26%	2,15–5,25%	1,55–11,08%	91,78 ± 5,55%	2,12–4,48%
Klomipramina	0,5–10	0,5	0,01	1,15–4,48%	2,33–6,17%	–3,10–10,7%	95,06 ± 8,93%	6,58–13,63%

### Procedura oczyszczania „kompotu”

1000 ml zabezpieczonego „kompotu” zostało oczyszczone z balastu roślinnego oraz zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych, w tym poprodukcyjnych. Proces dalszego oczyszczania prowadzono w dwóch etapach:

I – za pomocą kolumnowej chromatografii cieczowej, wykorzystując tlenek glinu i Silica gel jako fazę stałą oraz mieszaninę metanolu i wody, w proporcjach od 9:1 do 1:9, jako fazę ciekłą;

II – z wykorzystaniem metody ekstrakcji na fazie stałej (ang. *solid phase extraction* – SPE), przy użyciu aparatu próżniowego firmy J.T. Baker (USA) z pompką wodną. Zastosowano kolumny Bond Elut Certify (USA), których wypełnienie składało się z niepolarnego C-8 oraz silnego wymiennicza kationowego (SCX). Przy zastosowaniu tego rodzaju wypełnienia analizaty są silnie absorbowane poprzez kombinację dwóch mechanizmów oddziaływania: kulombowskiego i hydrofobowego, co pozwoliło w wydajniejszy sposób pozbyć się zanieczyszczeń. Stężenia opiatów w czasie procesu oczyszczania wyciągu ze słomy makowej były na bieżąco monitorowane, w celu sprawdzenia ich ilości, za pomocą HPLC-MS. Aby umożliwić porównanie obu postaci narkotyku w kontekście wpływu zanieczyszczeń, „kompot” oczyszczony był zatężony aż do momentu uzyskania takich stężeń głównych substancji psychoaktywnych, jak w „kompocie” nieoczyszczonym.

Zanieczyszczenia „kompotu” zidentyfikowano i analizowano ilościowo według metodyki przedstawionej w naszej poprzedniej pracy [1].

### Wyznaczanie dawki LD<sub>50</sub>

Do doświadczenia wykorzystane zostały samce szczurów szczepu Sprague-Dawley (SPD), w wieku 3 miesięcy, o masie ciała 200–250 g. Zwierzęta

pochodziły z Centralnej Zwierzętarńi Doświadczalnej Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach (CZD ŚAM), gdzie przeprowadzono eksperyment. Zwierzęta przebywały w pomieszczeniach, w których przez cały czas zachowane były następujące warunki:

- temperatura 20–22° C;
- względna wilgotność powietrza 50–60%;
- wymiana powietrza 12 razy/godz.;
- światło sztuczne 150–200 lux;
- rytm świetlny regulowany 12/12 godz.

Zwierzęta karmiono paszą granulowaną „Muri-gram”. Szczury miały wolny dostęp do wody pitnej. W czasie doświadczenia zwierzęta przebywały w klatkach hodowlanych po 6–10 sztuk. Badania przeprowadzono po uzyskaniu zgody lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach.

LD<sub>50</sub> wyznaczono dla dwóch wersji przygotowanych wyciągów ze słomy makowej – nieoczyszczonego i oczyszczonego oraz dla czystego roztworu chlorowodoru morfiny metodą Litchfielda i Wilcoxon, w modyfikacji Sokala [3, 4]. Przygotowany dla potrzeb eksperymentu roztwór wzorcowy morfiny zawierał 8,56 mg chlorowodoru morfiny w 1 ml soli fizjologicznej. Badania wykonano na 36 szczurach, przy czym 4 zwierzęta stanowiły grupę kontrolną. Odpowiednie wyciągi, a w grupie kontrolnej sól fizjologiczną, podano jednorazowo drogą dootrzewnową w 3 zróżnicowanych dawkach, w odniesieniu do morfiny (tab. V). Droga dootrzewnowa była stosowana ze względu na bardzo podobne wchłanianie, jak przy podaniu dożylnym, które jest najczęstszym sposobem przyjmowania „kompotu” przez narkomanów. Stosunkowo gęsta konsystencja „kompotu” i mały kaliber naczyń żylnych szczurów sprzyjają powikłaniom zakrzepowym, które mogłyby zakłócić przebieg doświadczenia, dlatego też zdecydowano się na drogę dootrzewnową. Mierzono liczbę szczurów,

które zmarły w ciągu 48 godzin. Zwierzęta, które przeżyły, były dekapitowane i poddawane sekcji zwłok.

**Tab. V.** Dawki „kompotu” i roztworu morfiny zastosowane w doświadczeniu zwierzęcym

**Tab. V.** Doses of the “compote” and morphine solution used in the animal experiment

Substancja	Dawka [mg/kg m.c.]
„Kompot” nieoczyszczony	35; 70; 105
„Kompot” oczyszczony	25; 50; 75
Chlorowodorek morfiny	30; 60; 90

## WYNIKI

Metoda HPLC-MS umożliwiła oznaczenie narkotycznych związków organicznych w „kompocie” nieoczyszczonym, a także monitorowanie ich stężenia podczas procesu zatężania „kompotu” oczyszczonego. Wyniki analizy ilościowej „uśrednionej próby kompotu” przedstawiono w tabeli VI.

**Tab. VI.** Wyniki analizy ilościowej głównych związków organicznych w „kompocie” nieoczyszczonym

**Tab. VI.** Results of quantitative analysis of the main organic compounds in the raw “compote”

Substancja	Stężenie [mg/ml]
Morfina	8,56
6-monoacetylmorfina	2,73
Kodeina	1,25
Papaweryna	0,23
Noskapina	0,30
Narceina	1,69
Tebaina	0,07

**Tab. VII.** Zawartość metali zidentyfikowanych w wyciągach przed i po oczyszczeniu

**Tab. VII.** Concentration of the metals identified in the extracts before and after purification

	Zn ppm	Fe ppm	Mn ppm	Pb ppb	Cd ppb	Cr ppb	Ni ppb	Cu ppb	As ppb
1	30,661	0,700	0,221	28,7	14,40	36,0	637,3	195,8	11,4
2	0,252	0,293	0,101	19,5	5,94	19,6	140,3	170,3	9,7
3	0,05	0,020	0,010	0,002	0,0002	0,002	0,002	0,02	0,0005

1 – metale oznaczone w „kompocie” nieoczyszczonym  
metals quantified in the raw “compote”

2 – metale oznaczone w „kompocie” oczyszczonym  
metals quantified in the treated “compote”

3 – granica oznaczalności (ppm)  
limit of quantification (ppm)

Opracowany schemat oczyszczania wyciągu ze słomy makowej pozwolił na uzyskanie klarownego, jasnożółtego płynu o znacznie zredukowanej ilości zanieczyszczeń. W pełni wyeliminowano pestycydy, WWA (za wyjątkiem benzo(a)pirenu w ilościach śladowych) i rozpuszczalniki organiczne (za wyjątkiem metanolu w ilościach śladowych). Wyniki oznaczeń metali przed i po oczyszczeniu przedstawiono w tabeli VII.

Wyznaczona dla szczurów szczepu SPD medialna dawka śmiertelna toksyczności ostrej dootrzewnowej (LD<sub>50</sub>) dla poszczególnych rodzajów wyciągów wyniosła:

- dla wyciągu nieoczyszczonego – 83,8 mg/kg m.c., przy przedziale ufności <66,9÷104,8> z prawdopodobieństwem  $\alpha = 0,05$ ;
- dla wyciągu oczyszczonego – 51,9 mg/kg m.c., przy przedziale ufności <40,17÷64,45> z prawdopodobieństwem  $\alpha = 0,05$ ;
- dla wzorcowego roztworu chlorowodorku morfiny – 61,1 mg/kg m.c., przy przedziale ufności <48,88÷76,38> z prawdopodobieństwem  $\alpha = 0,05$ .

## DYSKUSJA

„Kompot” jest mieszaniną substancji psychoaktywnych: morfiny, kodeiny, 6-monoacetylmorfiny (6-MAM), noskapiny, narceiny, papaweryny, tebainy i innych [5]. Skład jakościowy i ilościowy narkotyku jest zróżnicowany i zależy od jakości materiału wyjściowego, schematu i warunków produkcji oraz warunków przechowywania [6]. Sybirska i wsp. w analizowanym przez nich „kompocie” stwierdzili następujące stężenia substancji psychoaktywnych: morfina – 1,2–49,7 mg/ml, 6-monoacetylmorfina 0–2,5 mg/ml, heroina 0,2–2,1 mg/ml, kodeina 0,2–3,9 mg/ml, acetylokodeina 0–12,5 mg/ml, papawe-

ryna 0,2–4,7 mg/ml, noskapina 0–0,2 mg/ml [7]. Stężenia opiatów i innych substancji psychoaktywnych w materiale analizowanym przez autorów były podobne (tab. VI), co potwierdza jego reprezentatywność. Opracowana przez nas metoda oczyszczania „kompotu” pozwoliła na znaczną redukcję zawartych w nim zanieczyszczeń, dlatego może być z powodzeniem stosowana w badaniach doświadczalnych obu postaci narkotyku.

Wyznaczone dawki LD<sub>50</sub> dla „kompotów”: nieoczyszczonego i oczyszczonego, a także wzorcowego roztworu morfiny okazały się różne. Najniższa wartość LD<sub>50</sub> dla „kompotu” oczyszczonego (51,9 mg/kg m.c.) świadczy o większej toksyczności ostrej tej substancji względem „kompotu” nieoczyszczonego (83,8 mg/kg m.c.) i roztworu morfiny (61,1 mg/kg m.c.). Prawdopodobnie decydujące znaczenie odgrywają tu zidentyfikowane wcześniej zanieczyszczenia przed-, śród- i poprodukcyjne, które mogą wpływać na parametry toksykokinetyczne i tym samym modyfikować efekty ostrego narażenia na narkotyk. Zmianom mogą ulegać procesy wchłaniania, dystrybucji, biotransformacji i eliminacji ksenobiotyku, co ostatecznie przekłada się na zwiększenie lub zmniejszenie jego biodostępności, a tym samym toksyczności.

W innym eksperymencie, przeprowadzonym w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej w Katowicach na tej samej „uśrednionej próbie kompotu”, wyznaczono dawkę LD<sub>50</sub> dla „kompotu” z dodatkiem prometazyny (0,25 mg/ml) – leku z grupy pochodnych fenotiazyny, często dodawanego przez narkomanów celem wzmocnienia wrażeń narkotycznych i złagodzenia działań niepożądanych, przede wszystkim wymiotów [8]. Wyniosła ona 57,3 mg/kg m.c., czyli „kompot” z dodatkiem prometazyny cechowała mniejsza toksyczność ostra niż „kompot” oczyszczony, ale większa niż standardowy roztwór morfiny i „kompot” nieoczyszczony. Wzbogacenie „kompotu” prometazyną istotnie zmniejszyło szybkość wchłaniania i wydłużyło czas eliminacji jednocześnie podanych opiatów.

Wyznaczone wskaźniki LD<sub>50</sub> zostały wykorzystane przez nas do wyliczeń dawek do dalszych badań eksperymentalnych „kompotu” w modelu szczurzym, tzn. badań parametrów toksykokinetycznych dla poszczególnych rodzajów wyciągów (½ dawki LD<sub>50</sub>) oraz narażenia na „kompot” w przebiegu 28-dniowego doświadczenia (¼ dawki LD<sub>50</sub>), których wyniki zaprezentujemy w kolejnych pracach.

## WYKAZ PIŚMIENICTWA

1. Raport Krajowy 2009. Sytuacja narkotykowa w Polsce. Krajowe Biuro ds. Przeciwdziałania Narkomanii, Warszawa 2009.
2. Celiński R., Korczyńska M., Nowicka J. i wsp.: Analiza domowych przetworów słomy makowej (tzw. „kompotów”). Część 1 – zanieczyszczenia mikrobiologiczne, organiczne i nieorganiczne. *Alkoholizm i Narkomania* 2010, 4, 311-322.
3. Litchfield J.T., Wilcoxon F.A.: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Therapeut* 1947, 95, 99-113.
4. Sokal J.A., Knapik R., Majka J. i wsp.: Zakres i metody badań toksyczności substancji chemicznych w przemyśle. Wydawnictwo IMP, Łódź 1990: 18–21.
5. Kulikowska J.: Badania nad eliminacją alkaloidów opium u osób leczonych ośrodkiem detoksykacyjnym. Rozprawa doktorska. Śląska Akademia Medyczna w Katowicach, Katowice 1996.
6. Geschwinde T.: Rauschdrogen: Marktformen und Wirkungsweisen. Springer-Verlag, Heidelberg 2003: 245.
7. Sybirska H., Nasiłowski W., Zawitaj B. i wsp.: Ocena toksykologiczna zjawiska narkomanii na podstawie wyników badań analitycznych moczu pacjentów ośrodka detoksykacyjnego. *Zeszyty Problemowe Narkomanii* 1987, 2, 54–57.
8. Albert M., Olszowy Z., Celiński R. i wsp.: Interakcje prometazyny z alkaloidami opium określone na podstawie doświadczenia przeprowadzonego na szczurach. *Z zagadnień nauk sądowych* 2007, LXX, 135–146.

*Adres do korespondencji:*

*Prof. dr hab. Zofia Olszowy  
Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego  
ul. Kościelna 13, 41-200 Sosnowiec  
lab@imp.sosnowiec.pl*