

ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ОРГАНИЗМА:  
ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ**

**METHODS FOR INVESTIGATION  
OF ELEMENTAL COMPOSITION OF THE ORGANISM:  
THEORETICAL AND APPLIED ASPECTS**

***А.В. Скальный*<sup>1\*</sup>, *М.Г. Скальная*<sup>2</sup>, *Е.В. Лакарова*<sup>3</sup>, *Ю.В. Ломакин*<sup>3</sup>, *К.О. Шарипов*<sup>4</sup>  
*A.V. Skalny*<sup>1\*</sup>, *M.G. Skalnaya*<sup>2</sup>, *E.V. Lakarova*<sup>3</sup>, *Yu.V. Lomakin*<sup>3</sup>, *K.O. Sharipov*<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ГНУ Институт токсикологии ФМБА МЗСР РФ, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Центр Биотической медицины, Москва, Россия

<sup>3</sup> Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

<sup>4</sup> Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

<sup>1</sup> Institute of Toxicology, St.Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Centre for Biotic Medicine, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Orenburg State University, Orenburg, Russia

<sup>4</sup> C.D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** элементный состав организма, аналитические методы, медицинская технология.

**KEYWORDS:** body mineral content, analytical methods, medical technology.

**РЕЗЮМЕ.** В работе дана краткая характеристика основных современных аналитических методов, применяемых для элементного анализа биологических образцов. Приведено описание оригинальной медицинской технологии выявления нарушений минерального обмена у человека на основе спектрометрического анализа волос, крови, мочи и ряда других биосубстратов с последующей коррекцией минерального баланса при помощи биологически активных добавок к пище.

**ABSTRACT.** Contemporary needs of modern biology and medicine include determination of chemical element contents in living objects. The existing variety of analytical methods suggests a number of technologies for this purpose, among which the most applicable are instrumental spectrometry methods. A medical technology named “Revelation and correction of disturbances in human mineral metabolism” realizes methods of atomic emission and mass spectrometry with inductively coupled argon plasma for multielement hair analysis aimed on diagnostics and correction of mineral exchange in human organism. The technology represents an example of successful industrial application of modern analytical methods in medicine.

**ВВЕДЕНИЕ**

Фундаментальные и прикладные аспекты изучения биосферы и живых организмов как открытых систем, обменивающихся веществом и энергией с окружающей средой, требуют непрерывного отслеживания и контроля химического состава окружающего нас материального мира, включая живую материю. Решением этого грандиозного комплекса проблем занимается аналитическая химия. Широкое применение химического анализа в медицинской науке и практике в последние годы получило свежее звучание в связи интенсивным развитием ее нового направления – медицинской элементологии, химико-аналитическую основу которого составляет определение химических элементов в живом веществе в широчайшем диапазоне содержаний – от макро- до ультрамикроколичеств (Борисова и др., 2008). За последние 50 лет мировой наукой накоплены многочисленные данные об элементном составе различных биологических тканей и жидкостей. К сожалению, к большому количеству результатов, полученных в различных лабораториях за это продолжительное время, следует относиться с большой осторожностью (Ewers, Brockhaus, 1987; Braetter, 2002).

\* Адрес для переписки:

Скальный Анатолий Викторович, д.м.н., проф.

E-mail: skalnay3@microelements.ru

Это во многом обусловлено сложностью биологического материала как объекта исследования: биологические образцы характеризуются низким содержанием большинства химических элементов, требуют особой стандартизации процессов сбора и пробоподготовки, учета нестрогой однородности проб, матричных эффектов и т.д. Все это диктует необходимость тщательного подбора адекватных технологий и методов для проведения элементного анализа биологических объектов вообще и живых организмов в частности (Скальная, Нотова, 2004).

### **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ**

Эти методы можно подразделить на химические (гравиметрия, титриметрия) и физико-химические: электрохимические, хроматографические, спектрометрические (Отто, 2004; Борисова и др., 2008).

Химические методы анализа эффективны для определения веществ, содержащихся в анализируемом объекте в больших и средних количествах. Однако при их экспериментальной простоте и надежности общим их недостатком является невозможность определения малых, очень малых и микроколичеств химических элементов и веществ в разнообразных объектах: чувствительность и избирательность их в этих случаях оказываются совершенно недостаточными. Последнее исключительно важно для новых областей техники и технологии, при анализе качества среды обитания человека, объектов окружающей среды, разнообразных вод, биоты, пищевых продуктов, биологических проб и материалов, объектов современной медицины и других моментов, исключительно важных для жизни современного общества.

Электрохимические методы – совокупность технологий анализа растворов, основанных на изучении электрохимических свойств веществ, помещенных в электрохимическую ячейку. Это кондуктометрия, ионометрия, потенциометрия, вольтамперометрия, полярография и некоторые другие виды анализа. Они дешевы в применении и достаточно эффективны, особенно в отношении отдельных «проблемных» элементов, например йода. Однако эти методы малопродуктивны и часто требуют индивидуального подбора условий измерения для различных образцов.

Хроматографические методы анализа предназначены для анализа смесей веществ путем их разделения между подвижной и неподвижной фазами: элюентом и сорбентом. Для целей элементного анализа эффективна ионная хроматография, осуществляемая с помощью катионо- и анионообменников с малой обменной емкостью. Метод позволяет анализировать смеси различных катио-

нов и анионов. Большим достоинством метода является совместное определение присутствующих элементов из одной пробы. Прежде всего это щелочные и щелочноземельные металлы в водных растворах, а также галогены. Однако он малоэффективен в отношении определения металлов других групп и чувствителен к концентрации интерферирующих ионов.

Спектрометрические методы анализа основаны на регистрации испускания или поглощения квантов электромагнитного излучения атомами или молекулами исследуемого вещества. Принципиальной основой этих методов является тот факт, что каждый вид атомов, реагируя на энергетическое воздействие, дает характерный, присущий только ему энергетический ответ. В этих методах используют различные области спектра электромагнитного излучения, очень сильно различающиеся по энергии квантов: от  $10^{-6}$  до  $10^8$  эВ, отвечающие диапазону частот от  $10^6$  до  $10^{20}$  Гц. Это:  $\gamma$ -излучение, рентгеновское излучение, вакуумная ультрафиолетовая (УФ), видимая, инфракрасная (ИК) и микроволновая области, вплоть до радиоволновой.

В методах ядерной спектрометрии химические элементы определяют по интенсивности радиоактивного излучения ( $\gamma$ -спектр), возникающего вследствие взаимодействия атомных ядер с корпускулярным излучением и вызывающего превращение атомов определяемых элементов в радионуклиды. Особенно низкие пределы обнаружения и, следовательно, высокую чувствительность определяют (до  $10^{-12}\%$ ) обеспечивает нейтронноактивационный анализ, для применения которого требуется источник нейтронов – ядерный реактор, циклотрон, генератор нейтронов, изотопные нейтронные источники, нелинейные ускорители. Особенность метода – независимость чувствительности от формы нахождения элемента, но – длительность выполнения, необходимость работы в специальной радиохимической лаборатории.

Рентгенфлуоресцентный анализ основан на измерении вторичного рентгеновского излучения. Он традиционно используется для определения главных компонентов при анализе различных материалов и пород в промышленности и геологии, в последнее время стал применяться для анализа объектов окружающей среды, в медицине и фармации. Метод позволяет определять 83 элемента, от фтора до урана, в основном элементы с порядковым номером более 13. Определение легких элементов затруднено из-за незначительного выхода флуоресценции.

В атомно-эмиссионной фотометрии пламени в качестве источника возбуждения используется газовое пламя. Метод в основном применяют для определения щелочных и щелочноземельных металлов, поскольку для атомизации этих элементов и возбуждения спектров атомов достаточно температуры пламени газовой горелки. При этом достигаются весьма низкие пределы обнаружения, порядка  $10^{-3}$  –  $10^{-5}$  мкг/мл. Достоинствами метода являются

низкая стоимость, простота, производительность и умеренные требования к обслуживанию. К недостаткам, помимо ограниченного числа определяемых элементов, можно отнести так называемый атомный эффект, когда эмиссию анализа подавляют сигналы от других элементов и ионов.

В атомно-абсорбционном анализе вещество подвергают атомизации таким образом, что возбуждения атомов не происходит. Такие атомы способны поглощать кванты проходящего через него резонансного излучения, в результате чего наблюдается уменьшение его интенсивности, измеряемое детектором. Этот метод является одноэлементным, т.е. позволяет одновременно определять содержание лишь одного химического элемента в образце, хотя и с достаточно высокой чувствительностью.

Атомно-эмиссионный анализ позволяет определять до 70 элементов, в основном металлы (Подунова и др., 2003; Скальный и др., 2003). Для этого анализируемую пробу вводят в источник возбуждения (плазма электрического дугового разряда, высоковольтная искра, газовое пламя, индуктивно связанная плазма), где она испаряется и переходит в атомарное состояние. Атомы возбуждаются и, возвращаясь в основное состояние, испускают кванты. Суммарное излучение разлагается в линейчатый спектр. Регистрируют наличие, положение и интенсивность спектральных линий, отвечающих разрешенным правилами квантовой механики переходам внешних валентных электронов того или иного элемента. Функцией природы атомов является длина волны спектральной линии в оптической области 200–800 нм, функцией количества – интенсивность этих линий. Основная область атомно-эмиссионного анализа – определение металлов в различных объектах. Влияние матрицы учитывают тщательным выбором спектральных линий и соответствующей химической обработкой пробы. Атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой – это один из лучших современных методов, применяемых для анализа биологических проб, что подтверждает также наличие официальных методик и нормативных документов (Иванов и др., 2003).

Атомно-эмиссионный и атомно-абсорбционный методы характеризуются низкими пределами обнаружения ( $10^{-5}$  –  $10^{-3}\%$ ), особенно при использовании индуктивно-связанной плазмы и электротермической атомизации ( $10^{-7}$  –  $10^{-5}\%$ ) соответственно.

В последние годы в качестве наиболее перспективного метода для определения микро- и ультрамикроэлементов в биосубстратах стал признаваться метод масс-спектрометрии (Иванов и др., 2003). Этот метод основывается на ионизации атомов и последующем разделении образовавшихся ионов в магнитном и электрическом полях в соответствии с отношением массы иона к заряду. Серьезным прорывом в область низких пределов обнаружения при анализе биологических объектов стала масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-МС). Использование ИСП

для ионизации пробы биологических субстратов позволило преодолеть существенные (именно ввиду специфики объектов анализа) недостатки способов ионизации пробы электронным ударом, химической ионизации, ионизации искрой. В сочетании с применением квадрупольного масс-анализатора, технология позволяет определять практически любые элементы в концентрациях до  $10^{-10}\%$ . Исключением являются элемент-органогены, ионы с массовыми числами менее 3 и ряд элементов, определение которых затруднено в силу специфики используемых газов-носителей.

### ПРЕДПОСЫЛКИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА ОРГАНИЗМА

В число многочисленных областей применения аналитических методов определения химических элементов в биологических образцах входит медицина (Иванов и др., 2003; Скальный, 2004; Борисова и др., 2008). Для реализации системного подхода к решению проблемы охраны здоровья человека в настоящее время разработаны и утверждены Министерством здравоохранения соответствующие Концепция и Отраслевая программа на 2003–2010 гг. (приказы № 113 и 114 от 21.03.2003 г.). Целью программы является сохранение здоровья, сокращение сроков восстановления здоровья путем внедрения современных методов диагностики и оздоровительных программ с использованием всего арсенала немедикаментозных средств.

Стабильность химического состава является одним из важнейших и обязательных условий нормального функционирования организма. Соответственно, отклонения в содержании химических элементов, вызванные экологическими, профессиональными, климатогеографическими факторами или заболеваниями приводят к широкому спектру нарушений в состоянии здоровья. Поэтому выявление и оценка сдвигов в обмене макро- и микроэлементов, а также их коррекция являются перспективным направлением современной медицины, позволяющим подойти к решению ряда теоретических и, особенно, практических вопросов, существенно влияющих на показатели здоровья населения регионов России, резко отличающихся по уровню экономического и социального развития, климатогеографическим, биогеохимическим условиям (Скальный, 2000).

Оценка элементного статуса человека является основным вопросом определения влияния на здоровье человека дефицита, избытка или нарушения тканевого перераспределения макро- и микроэлементов (Скальная, Нотова, 2004).

Эта оценка производится либо путем прямого определения содержания химических элементов в органах и тканях человека, либо косвенно – путем изучения различных биохимических реакций и процессов, в которые вовлечены эти элементы. Главной задачей всегда является выбор наиболее

подходящих для целей исследования биосубстратов и методов анализа.

Наиболее информативными для целей гигиенической диагностики следует считать ткани или органы, которые вовлечены в процессы «хранения» (депонирования) и аккумуляции (концентрирования) элементов (Любченко и др., 1988; Krause et al., 1989; Sabbioni et al., 1992; Скальный, 2000; Серебрянский, 2003; Баранова, 2005).

Кратковременные по экспозиции и значительные по степени отклонения элементного статуса изменения отражены в их концентрации в жидких средах организма, тогда как твердые ткани (волосы, ногти, кости) представляют элементный статус, формирующийся в течение длительного времени (месяцы, годы) и более пригодны для целей клинической и гигиенической донозологической диагностики. Серьезные изменения баланса химических элементов отражаются на элементном составе внутренних органов и тканей, которые являются информативными биосредами в первую очередь для клинической диагностики (Панченко и др., 2004).

В последнее время все больший интерес для выявления состояния обмена макро- и микроэлементов в организме и токсического воздействия отдельных тяжелых металлов представляет исследование волос. Во многих отношениях волосы являются благоприятным материалом для такого рода исследований и имеют ряд преимуществ: проба может быть получена без травмирования больного, для хранения материала не требуется специального оборудования, волосы не портятся и сохраняются практически без ограничения во времени (Скальный и др., 1990; Ревич, 1992; Скальный, Есенин, 1997).

Перспективно использование проб волос как архивного материала в историческом биомониторинге, что, при постоянном совершенствовании аналитической базы, открывает новые возможности для этого вида контроля уровня элементов в человеческом организме и оценки загрязнения окружающей среды (Скальный, Есенин, 1997).

Аналитические исследования выполняются в основном методами атомной эмиссионной и масс-спектрометрии с индукционно связанной аргонной плазмой (АЭС-ИСП, МС-ИСП), а в ряде случаев – методом атомно-абсорбционного анализа.

### **МЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ «ВЫЯВЛЕНИЕ И КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА»**

Медицинская технология введена на территории Российской Федерации в 2007 г. (Регистрационное удостоверение № ФС-2007/128 от 09 июля 2007 г.), однако ее модификации, разработанные д.м.н., профессором А.В.Скальным, используются в здравоохранении с 1988 г.

Наличие нарушений обмена макро- и микроэлементов является показанием для применения

разработанных в данной технологии методов восполнения дефицита макро- и микроэлементов или способов выведения токсических ХЭ и их соединений с применением биологически активных добавок к пище (Скальный, Рудаков, 2004).

Диагностические исследования на изучение содержания макро- и микроэлементов в биосубстратах (волосах, ногтях, крови, моче и др.) выполняются по направлению при наличии у пациентов признаков нарушения минерального обмена в организме (дефицит минеральных веществ МКДР Е61.8).

В качестве основных средств коррекции минерального обмена организма человека, применяемых при обнаружении дефицита различных макро- и микроэлементов используются БАДП «Био-калий», «Кальцихел», «Био-магний», «Био-цинк», «Био-медь», «Био-марганец», «Хромохел», «Селенохел», «Кобахел» (производство АНО «Центр биотической медицины», г. Москва)

На основании 38569 первичных и 4351 повторных анализов получены следующие данные по изучению коррекции минерального обмена:

1. С участием 1862 лиц с обнаруженным недостатком кальция показано, что после курса приема препарата Кальцихела дефицит кальция устраняется в 35% случаев, что проявлялось в увеличении содержания кальция при повторных анализах и достоверном снижении выраженности клинических проявлений. Дефицит снизился, но не устранен в 38% случаев, выраженность клинических проявлений уменьшилась. Изменений не произошло ни в анализах, ни в клинической картине – в 27% случаев.

2. У 976 лиц с обнаруженным недостатком магния показано, что после курса приема препарата Био-магний дефицит магния устраняется в 30% случаев, что проявлялось в увеличении содержания магния при повторных анализах и достоверном снижении выраженности клинических проявлений. Дефицит снизился, но не устранен в 33% случаев, выраженность клинических проявлений уменьшилась. Изменений не произошло ни в анализах, ни в клинической картине – в 37% случаев.

3. У 1103 лиц с обнаруженным недостатком цинка показано, что после курса приема препарата Био-цинка дефицит цинка устраняется в 40% случаев, что проявлялось в увеличении содержания цинка при повторных анализах и достоверном снижении выраженности клинических проявлений. Дефицит снизился, но не устранен в 35% случаев, выраженность клинических проявлений уменьшилась. Изменений не произошло ни в анализах, ни в клинической картине – в 25% случаев.

4. У 1089 лиц с обнаруженным недостатком меди показано, что после курса приема препарата Био-медь дефицит меди устраняется в 45% случаев, что проявлялось в увеличении содержания меди при повторных анализах и достоверном снижении выраженности клинических проявлений. Дефицит снизился, но не устранен в 36% случаев,

выраженность клинических проявлений уменьшилась. Изменений не произошло ни в анализах, ни в клинической картине – в 19% случаев.

5. На примере 2068 лиц с обнаруженным недостатком селена показано, что после курса приема препарата Селенохела дефицит селена устраняется в 50% случаев, что проявлялось в увеличении содержания селена при повторных анализах и достоверном снижении выраженности клинических проявлений. Дефицит снизился, но не устранен в 42% случаев, выраженность клинических проявлений уменьшилась. Изменений не произошло ни в анализах, ни в клинической картине – в 8% случаев.

Дефициты 3–4 степени отклонения не всегда могут быть устранены в течение одного курса коррекции, после повторно сданного анализа (через 4–6 месяцев с момента первого анализа) при выявлении дефицита лечение может быть продолжено.

Таким образом, в настоящее время отечественным исследователям стали доступны современные аналитические методы, позволяющие создавать новые технологии исследования элементного состава живых организмов. Многоэлементный анализ волос является одним из примеров успешного промышленного применения разработанной технологии неинвазивной оценки элементного статуса человека.

## ЛИТЕРАТУРА

- Баранова О.В.* Гигиеническая оценка фактического питания и особенности элементного статуса студентов Оренбуржья. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М., 2005. 23 с.
- Борисова Е.Я., Иванова Г.Ф., Калетина Н.И.* (ред.), *Мицихин В.А., Симонов Е.А., Скальная М.Г., Скальный А.В., Смирнов А.В., Чукарин А.В.* Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. 1016 с.
- Иванов С.И., Подунова Л.Г., Скачков В.Б., Тутельян В.А., Скальный А.В., Демидов В.А., Скальная М.Г., Серебрянский Е.П., Грабеклис А.Р., Кузнецов В.В.* Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией: Методические указания (МУК 4.1.1482-03, МУК 4.1.1483-03). М.: Федеральный Центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2003. 56 с.
- Любченко П.Н., Ревич Б.А., Левченко И.И.* Скрининговые методы для выявления групп повышенного риска среди рабочих, контактирующих с токсичными химическими элементами: Методические рекомендации. Утв. МЗ СССР 28.11.1988 г. М. 1988. 24 с.
- Отто М.* Современные методы аналитической химии. В 2-х томах / пер. с нем. под ред. А.В. Гармаша. М.: Техносфера. 2004.
- Панченко Л.Ф., Маев И.В., Гуревич К.Г.* Клиническая биохимия микроэлементов. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ. 2004. 368 с.
- Подунова Л.Г., Скачков В.Б., Скальный А.В., Демидов В.А., Скальная М.Г., Серебрянский Е.П., Грабек-*
- лис А.Р., Кузнецов В.В., Маймулов В.Г., Лимин Б.В.* Методика определения микроэлементов в диагностирующих биосубстратах атомной спектроскопией с индуктивно связанной аргонной плазмой: Методические рекомендации, утверждены ФЦГСЭН 29.01.2003. М.: ФЦГСЭН МЗ РФ. 2003. 17 с.
- Ревич Б.А.* Научные основы гигиенических исследований окружающей среды городов с использованием геохимических методов. Автореф. дисс. докт. мед. наук. М. 1992. 48с.
- Серебрянский Е.П.* Разработка спектрометрических методов определения химических элементов в окружающей среде и биосредах человека для гигиенических исследований. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М. 2003. 24 с.
- Скальная М.Г., Нотова С.В.* Макро- и микроэлементы в питании современного человека: эколого-физиологические и социальные аспекты. М.: РОСМЭМ. 2004. 310 с.
- Скальный А.В.* Химические элементы в физиологии и экологии человека. М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир. 2004. 216 с.
- Скальный А.В.* Эколого-физиологическое обоснование эффективности использования макро- и микроэлементов при нарушениях гомеостаза у обследуемых из различных климатогеографических регионов. Автореф. дисс. докт. мед. наук. М. 2000. 43 с.
- Скальный А.В., Быков А.Т., Серебрянский Е.П., Скальная М.Г.* Медико-экологическая оценка риска гипермикрозлементозов у населения мегаполиса. Оренбург: РИК ГОУ ОГУ. 2003. 146 с.
- Скальный А.В., Есенин А.В.* Мониторинг и оценка риска воздействия свинца на человека и окружающую среду с использованием биосубстратов человека // Токсикологический вестник. 1997. № 6. С. 16–23.
- Скальный А.В., Славин Ф.И., Семенов А.С.* Хроническая алкогольная интоксикация и микроэлементный состав волос // Суд. мед. экспертиза. 1990. № 1. С. 42–43.
- Скальный А.В., Рудаков И.А.* Биоэлементы в медицине. М.: Издательский дом «Оникс 21 век»: Мир. 2004. 272 с.
- Braetter P.* Auswahl und Zugänglichkeit von Probenmaterial zur Bestimmung von Spurenelemente // Biesalski H.K., Koehle J., Schuemann K. (Hrsg.) Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe. Praevention und Therapie mit Mikronaehrstoffen Stuttgart: Thieme. 2002. S. 682–687.
- Ewers U., Brockhaus A.* Die biologische Überwachung der Schadstoffbelastung des Menschen und ihre Bedeutung bei der Beurteilung umwelttoxikologischer Einflüsse // Offentl Gesundheitswes. 1987. 49(12):639–647.
- Krause C., Chutsch M., Henke M., Huber M., Kleim C.* Studienbeschreibung und Humanbiologisches Monitoring // Umweltsurvey. 1989, V. 1. Pt. 5.
- Sabbioni E., Minoia C., Pietra R., Fortaner S., Gallorini M., Saltelli A.* Trace elements reference values in tissues from inhabitants of the European Community. II. Examples of strategy adopted and trace element analysis of blood lymph nodes and cerebrospinal fluid of Italian subjects // Sci Total Environ. 1992, 120(1–2):39–61.