

MEDLINE.RU, ТОМ 21, ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА, 16 МАЯ 2020

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРО- И
НАНОФОРМ АЛЮМИНИЯ ПРИ ОДНОКРАТНОМ ИНТРАТРАХЕАЛЬНОМ
ВВЕДЕНИИ**

Антонов В.А., Жуков В.Е., Великородная Ю.И., Фролова И.Г.

*Федеральное государственное унитарное предприятие «Научно-исследовательский
институт гигиены, токсикологии и профпатологии» Федерального медико-
биологического агентства (ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России)
400048 г. Волгоград, ул. Землячки, 12, (8442) 78-62-57, e-mail: niigtp@rihtop.ru*

Резюме. Целью работы являлось изучение токсических свойств алюминия в виде микро- и наноразмерных форм при однократном поступлении через дыхательные пути. Применяемый алюминий представлял собой два вида порошков со средним размером частиц 2,4 мкм и 82,3 нм. Порошки вводили белым беспородным крысам, находившимся под рауш-наркозом. Эффективность воздействия оценивали по проявлениям цитотоксичности, а также по клинической картине и комплексу интегральных показателей, включая данные гистологических исследований. Алюминий в обеих формах дисперсности проявлял цитотоксические свойства, а также вызывал у подопытных животных снижение порога болевой чувствительности (через 1 сутки), относительной массы легких (через 14 суток). Наряду с этим введение наночастиц металла сопровождалось снижением массы тела, двигательной активности и стойкой тахикардией. Деструктивные процессы имели место лишь в легочной ткани и прилегающих лимфатических узлах. В целом алюминий в виде наноформы, по сравнению с его микроформой, оказывал более выраженное токсическое действие на организм лабораторных животных.

Ключевые слова: нано-алюминий, микро-алюминий, интратрахеальное введение, цитотоксичность, легкие.

COMPARATIVE TOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ALUMINUM MICRO- AND NANOFORMS WITH THE SINGLE INTRATRACHEAL ADMINISTRATION

Antonov V.A., Zhukov V.Ye., Velikorodnaya Yu. I., Frolova I.G.

Federal State Unitary Enterprise "Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology" of Medical and Biological Agency, Russia

Abstract. The goal of the work was to study the toxic properties of aluminum in micro- and nanoscale forms with the single intake through the respiratory tract. The aluminum used was two types of powders with an average particle size of 2.4 microns and 82.3 nm. The powders were injected to white outbred rats under a general anesthesia. The exposure effectiveness was evaluated by the cytotoxicity manifestations, as well as by the clinical picture and the complex of integrated indicators, including histological studies. Aluminum in both dispersion forms showed cytotoxic properties and also caused the decrease in the pain sensitivity threshold (after 1 day) and relative lung mass (after 14 days) in experimental animals. Along with this, the introduction of metal nanoparticles was accompanied by the decrease in body weight, motor activity, and persistent tachycardia. Destructive processes took place only in the lung tissue and adjacent lymph nodes. In general, aluminum in the nanoform, in comparison with its microform, had a more pronounced toxic effect on the organism of laboratory animals.

Key words: nano-aluminum, micro-aluminum, intratracheal administration, citotoxicity, lungs

Введение. Согласно Концепции Роспотребнадзора вещества и материалы в наноформе рассматриваются как новые виды материалов и продукции, характеристика потенциального риска которых для здоровья человека и состояния среды обитания во всех случаях является обязательной [1]. Наряду с оценкой производственных условий для установления потенциального ущерба здоровью необходимы и данные об опасности химического вещества, как при однократном, так и длительном поступлении.

Изучение условий труда на предприятиях, производящих и применяющих соединения алюминия, показало, что в воздухе рабочей зоны наряду с грубодисперсными частицами вещества присутствуют и наноразмерные частицы, токсические свойства которых могут превалировать над микроформой [2, 3].

Поскольку в доступной литературе не обнаружено сведений о сравнительных характеристиках токсикодинамики микро- и наноразмерных форм алюминия при поступлении через верхние дыхательные пути, то представлялось целесообразным проведение исследований по изучению токсических свойств частиц алюминия различной

дисперсности при однократном применении.

Материалы и методы. Объектом исследования являлся алюминий (CAS № 7429-90-5) различной размерности. В качестве микро- и наночастичек вещества использовали порошки марки АСД-1 и L-ALEXTM со средним размером частиц 2,4 мкм и 82,3 нм соответственно (дисперсность определяли с помощью Nanotrac ULTRA (Microtrac, USA).

Опыты выполняли на аутбредных крысах-самцах. Планирование и проведение экспериментов осуществляли с учетом положений методических документов [4, 5]. Организация работы и содержание животных соответствовали «Правилам лабораторной практики» [6,7].

Цитотоксичность алюминиевой пыли определяли по количеству нейтрофилов и альвеолярных макрофагов и их соотношению в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ). Перфузию бронхолегочного комплекса проводили через сутки после интратрахеального введения животным по 5,0 мг микро- и наноалюминия [4].

Общетоксические свойства исследовали при однократном интратрахеальном введении 50,0 мг микро- и наночастиц алюминия животным, находившихся под эфирным рауш-наркозом [5, 6]. Частицы алюминия применяли в виде взвеси в спиртовом растворе на деионизированной воде (в соотношении 1:24) в объеме 1,0 мл. Взвесь готовили *ex tempore* и подвергали ультразвуковому диспергированию. Для контрольных особей использовали растворитель в аналогичном объеме. Численностей животных в каждой группе составляла 8 особей. Продолжительность наблюдения составляла 14 суток.

Эффективность токсического воздействия алюминия оценивали по клинической картине отравления и комплексу тестов, включавших физиологические, гематологические и иммунологические показатели (всего 41 показатель), а также по данным патоморфологических исследований.

Статистический анализ экспериментальных данных осуществляли с применением t-критерия Стьюдента [8].

Результаты. Исследование клеточного состава жидкости БАЛ выявило, что независимо от дисперсности частиц алюминия увеличение количества нейтрофилов в определенной мере связано со снижением содержания макрофагов относительно животных контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 – Клеточный состав жидкости бронхолегочного лаважа белых крыс, проведенного через 24 часа после интратрахеального применения микро- и нанодисперсного алюминия

Группы животных	Показатели
-----------------	------------

	Количество нейтрофилов, %	Количество макрофагов, %	Соотношение нейтрофилы / альвеолярные макрофаги
Контроль	25,90 ± 1,99	74,10 ± 1,99	0,35 ± 0,04
Микро-алюминий	35,00 ± 1,37	65,00 ± 1,37	0,54 ± 0,03 *
Нано-алюминий	42,50 ± 2,43	57,50 ± 2,43	0,76 ± 0,07 ** ##
Примечания 1 * изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ в сравнении со средние групповыми значениями контрольных животных. 2 ** изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и выходят за пределы значений ($M \pm 2\sigma$) соответствующих показателей животных контрольной группы. 3 ## изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и выходят за пределы значений ($M \pm 2\sigma$) соответствующего показателя животных, которым вводили микроформу алюминия.			

Анализ соотношения нейтрофилы/альвеолярные макрофаги свидетельствовал об увеличении показателя в 1,5 и 2,2 раза по сравнению с контролем после применения микро- и наночастиц алюминия соответственно, а также в 1,4 раза в группе нано-алюминия относительно группы микро-алюминия (таблица 1).

Из сопоставления цифрового материала следует, что алюминий в виде наночастиц обладает большей цитотоксичностью, в отличие от микро размерной формы.

При изучении общетоксических свойств микро- и наночастиц алюминия у животных видимых признаков интоксикации зарегистрировано не было на протяжении всего периода наблюдения. Статистически достоверные данные, полученные при тестировании подопытных крыс-самцов, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Динамика состояния белых крыс-самцов после однократного интратрахеального введения 50,0 мг частиц алюминия различной дисперсности

Показатели, единицы измерения	Сроки тестирования	Группы животных		
		контроль	микро-алюминий	нано-алюминий
Масса тела, г.	1 сутки	243,13 ± 4,32	228,75 ± 8,33	215,00 ± 7,26 **
ЧСС, мин.	1 сутки	390,00 ± 8,56	373,33 ± 12,29	423,33 ± 9,55 * #
	7 сутки	376,67 ± 13,08	376,67 ± 17,45	436,67 ± 14,06 **
	14 сутки	336,67 ± 12,02	333,33 ± 15,20	410,00 ± 11,25 *** ##
Порог реакции на тепловое воздействие, °C	1 сутки	47,93 ± 0,22	48,55 ± 0,17 *	48,63 ± 0,20 *
Горизонтальная активность, мин.	14 сутки	6,50 ± 0,85	5,33 ± 1,15	2,83 ± 1,35 *
Суммарная активность, мин.	14 сутки	9,33 ± 1,26	8,50 ± 1,89	5,33 ± 1,17 *
Коэффициенты относительной массы легких	14 сутки	4,51 ± 0,32	6,00 ± 0,55 *	10,61 ± 0,71 ** ##
Примечания				

- 1 * изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ в сравнении со средними групповыми значениями контрольных животных.
- 2 ** изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и выходят за пределы значений ($M \pm 2\sigma$) соответствующих показателей животных контрольной группы.
- 3 # изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ в сравнении со средними групповыми значениями животных, которым вводили микроформу алюминия.
- 4 ## изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$ и выходят за пределы значений ($M \pm 2\sigma$) соответствующих показателей животных, которым вводили микроформу алюминия.

Воздействие микроформы алюминия вызывало статистически достоверное повышение величины порога в тесте «горячая/холодная плита» через 1 сутки (на 1,3%), а также увеличение относительной массы легких через 14 суток (в 1,3 раза).

Введение наноформы алюминия сопровождалось достоверным снижением массы тела (на 11,6%), а также повышением порога реакции на тепловое воздействие (на 1,5%) и частоты сердечных сокращений (ЧСС) на 8,5% через 1 сутки. Наличие тахикардии было зафиксировано на протяжении всего эксперимента: через 3 суток на 15,9% и через 14 дней на 21,8%. При тестировании животных через 2 недели, помимо увеличения ЧСС, отмечено угнетение горизонтальной и суммарной двигательной активности (на 56,5 и 42,9% соответственно), а также повышение относительной массы легких (в 2,4 раза). О проявлении вредного действия наночастиц алюминия свидетельствовали изменения следующих показателей: масса тела животных, ЧСС и коэффициент относительной массы легких (14 сутки).

При вскрытии животных, проведенного по завершении периода наблюдения, обращало на себя внимание наличие в легких и лимфатических узлах средостения вкраплений, а также пятен черного цвета, при этом большая площадь этих участков отмечалась после применения алюминия в виде наноформы.

При микроскопических исследованиях установлено, что реакция легочной ткани на присутствие микроформ алюминия заключалась в образовании вокруг них тонкой соединительнотканной оболочки, кроме альвеол микрочастицы вещества локализовались и в гигантских многоядерных клетках (рисунок 1, фрагмент А).

После введения нано-алюминия было обнаружено формирование вокруг частиц многослойных муфт из различного типа клеток, которые образовывали эпителиоидно-клеточные и гигантоклеточные гранулемы (рисунок 1, фрагмент Б).

В лимфатических узлах средостения обнаружено присутствие незначительного количества микрочастиц алюминия (рисунок 2, фрагмент А).

Наночастицы вещества накапливались преимущественно в корковом слое лимфоузлов. Наряду с этим у 50% животных вдоль синусов лимфатического узла

наблюдалось скопление макрофагов, в цитоплазме которых содержался пигмент, предположительно, гемосидерин (рисунок 2, фрагмент Б).

Обсуждение. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при применении алюминия в виде нано- и микро форм вызывало снижение количества макрофагов и увеличение числа нейтрофилов в жидкости БАЛ, при этом большее повышение содержания клеток белой крови имело место при поступлении наноразмерных частиц. Подобные различия наблюдали и в опытах с оксидом алюминия [9, 10]. Авторы связывают интенсивную деградацию макрофагов с большей удельной поверхностью наночастиц вещества в сравнении с его микроформой (113 и 0,7 м²/г соответственно), а поступление лейкоцитов в легочную ткань рассматривается в качестве компенсаторной защитной реакции организма [9, 10]. Регистрировавшиеся проявления действия наноалюминия (снижение массы тела и ее замедленное восстановление, развитие тормозных процессов в ЦНС, а также тахикардия) могут быть объяснены исходя из общих представлений о механизмах токсичности наночастиц твердых аэрозолей.

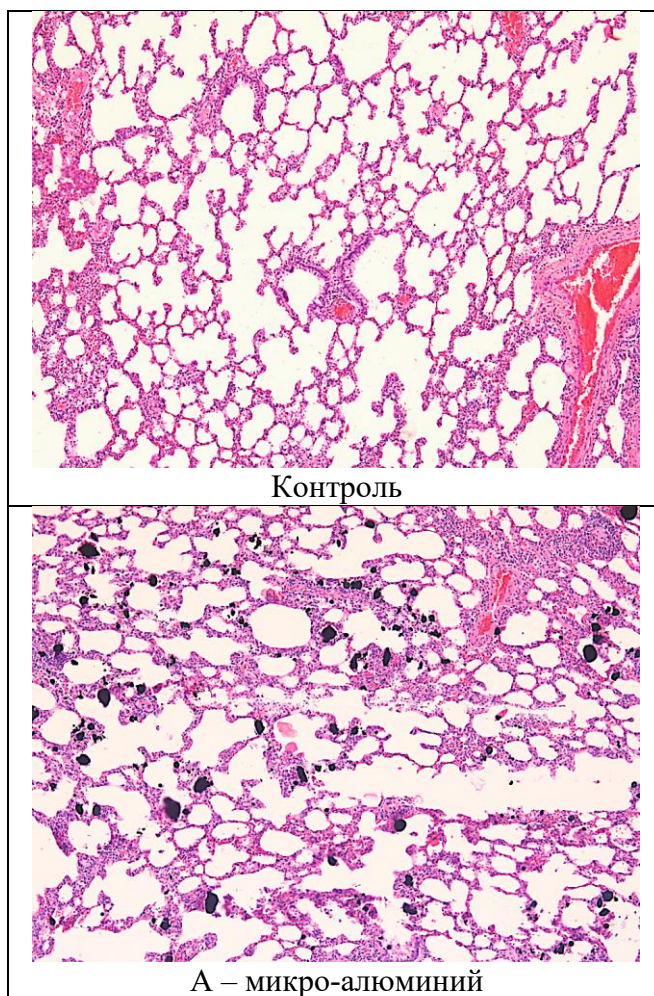
Считается, что наночастицы из легких поступают в органы и ткани либо с током крови, либо через лимфатическую систему [11]. Аккумулируясь в клетках, наночастицы индуцируют образование активных форм кислорода, развивающий при этом оксидативный стресс сопровождается дисфункцией органов и систем [12 – 15].

Увеличение коэффициента относительной массы легких может обуславливаться большей задержкой наночастиц, в сравнении с микродисперсной формой (о чем свидетельствует и внешний вид бронхолегочного комплекса), а также тем, что наряду с повреждением альвеолярных макрофагов и тканевой структуры идет и активация систем детоксикации и репарации, требующих повышенного кровоснабжения.

Изменение гистоархитектоники легочной ткани после поступления микродисперсных частиц металла свидетельствует об умеренном протекании воспалительного процесса в нижних отделах дыхательных путей. В тоже время, введение более мелкой фракции алюминия оказывает крайне негативное влияние на функционирование клеток альвеолярного эпителия, в результате чего вокруг поврежденного участка формируются гранулематозные муфты. Данные образования являются признаком фибротического перерождения легочной ткани, которое сопровождается накоплением внеклеточного матрикса, преимущественно коллагена I и III типа, в межальвеолярном, периваскулярном и перибронхиальном пространствах [16].

Выводы.

1. Нано-дисперсный алюминий проявляет более выраженное цитотоксическое действие в отношении альвеолярных макрофагов, в сравнении с его микроформой.
2. Интратрахеальное введение наночастиц вещества, в отличии от применения его микродисперсной формы, сопровождается нарушениями обменных процессов, нейротропными и кардиотропными эффектами.
3. Воздействие нано-алюминия характеризуется развитием в легких продуктивного воспаления по типу гранулематозного, а также структурными нарушениями в лимфатических узлах средостения.



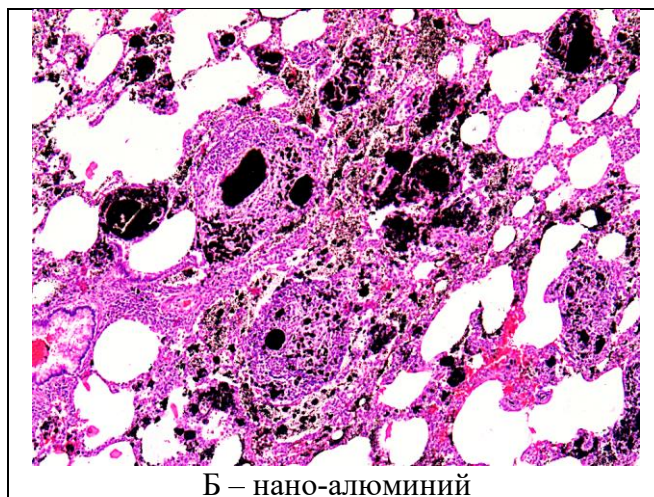
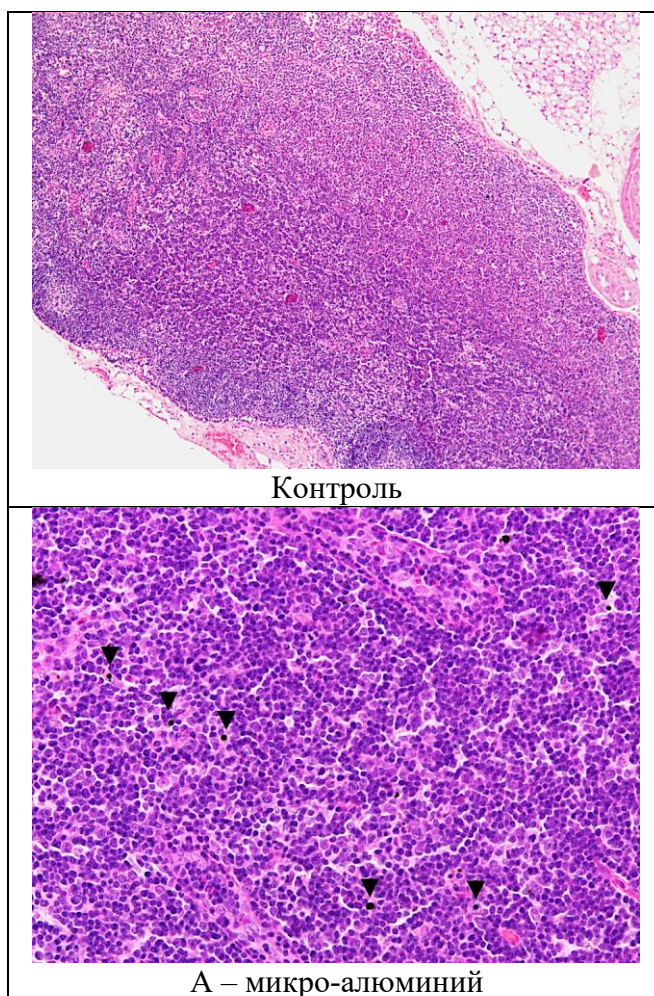


Рисунок 1 – Микроскопическое строение легкого животных через 14 суток после однократного интратрахеального введения тестируемых веществ.
А – диссеминированные мелкие гранулы, содержащие микрочастицы алюминия;
Б – сформировавшиеся крупноочаговые гранулы, содержащие наночастицы алюминия.
Окраска гематоксилин-эозин-флоксином. Общее увеличение $\times 200$.



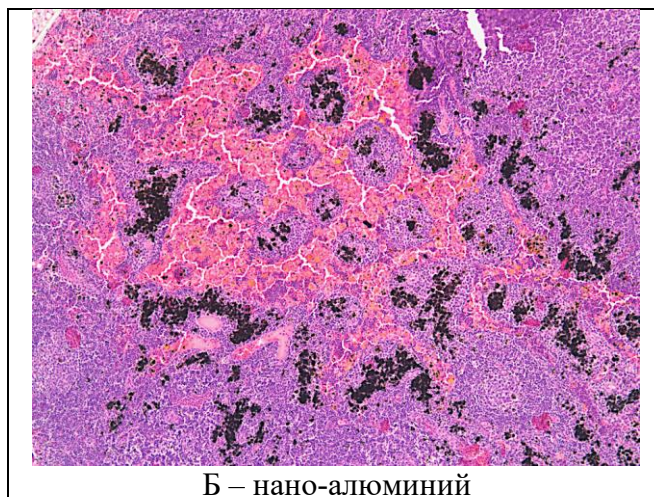


Рисунок 2 – Микроскопическое строение лимфатического узла средостения животных через 14 суток после однократного интратрахеального введения тестируемых веществ.

А – единичные микрочастицы алюминия в медуллярной части лимфатического узла (показано стрелками);

Б – накопление наночастиц алюминия в корковой части лимфатического узла и скопление макрофагов вдоль синусов.

Окраска гематоксилин-эозин-флоксином. Общее увеличение $\times 200$.

Литература

1. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31.10.2007 № 79 «Об утверждении Концепции токсикологических исследований, методологии оценки риска, методов идентификации и количественного определения наноматериалов» (Зарегистрировано в Минюсте России 22.11.2007 г., № 10528). – URL: <https://base.garant.ru/12157240/> (дата обращения 13.11.2019).
2. Гигиеническая оценка содержания наноразмерных твердых аэрозолей в воздухе рабочей зоны производств энергоемких материалов (твердые ракетные топлива, взрывчатые вещества и пороха) на предприятиях, курируемых ФМБА России: отчет о НИР (заключит.) / ФГУП «НИИ ГТП» ФМБА России; рук. Б.Н. Филатов; исполн.: Н.Г. Британов. Волгоград, 2017. 94 с.
3. Уланова Т.С., Гилева О.В., Волкова М.В. Определение частиц микро- и нанодиапазона в воздухе рабочей зоны на предприятиях горнодобывающей промышленности / Анализ риска здоровью. 2015. Т. 4. С. 44-49.
4. Обоснование предельно допустимых концентраций (ПДК) аэрозолей в рабочей зоне (Временные методические рекомендации): утв. зам. Главного государственного санитарного врача СССР 03.03.1983 г. М., 1983. 83 с.

5. Методические указания к постановке исследований для обоснования санитарных стандартов вредных веществ в воздухе рабочей зоны: утв. Главным Государственным санитарным врачом СССР 04.04.1980 г. М., 1980. 20 с.

6. ГОСТ 33044-2014. Принципы надлежащей лабораторной практики // Введ. 2015-08-01. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации; М.: Стандартинформ, 2015. 16 с.

7. Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016, регистрационный № 43232) [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://pravo.gov.ru>. – Заглавие с экрана. Дата обращения: 04.10.2019.

8. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. М.: Изд-во МГУ, 1980. 150 с.

9. Землянова М.А., Зайцева Н.В., Игнатова А.М. Степанков М.С. Оценка реакции дыхательных путей на однократное интратрахеальное введение нано- и микроразмерных частиц оксида алюминия / Гигиена и санитария. 2019. № 2. С. 196-202.

10. Yong-Soon Kim, Yong-Hyun Chung, Dong-Seok Seo, Hyun-Sung Choi and Cheol-Hong Lim. Twenty-Eight-Day Repeated Inhalation Toxicity Study of Aluminum Oxide Nanoparticles in Male Sprague-Dawley Rats / Toxicol. Res. 2018. Vol. 34, N. 3. P. 343-354.

11. Pauluhn J. Pulmonary toxicity and fate of agglomerated 10 and 40 nm aluminum oxyhydroxides following 4-week inhalation exposure of rats: toxic effects are determined by agglomerated, not primary particle size / Toxicol. Sci. 2009. Vol.109, N 1. P 152-167.

12. Chen L., Yokel R.A., Hennig B., Toborek M. Manufactured aluminum oxide nanoparticles decrease expression of tight junction proteins in brain vasculature / J. Neuroimmune Pharmacol. 2008. Vol. 3, N 4. P. 286-295.

13. Xin Zhang, Xin Zhang, Yan Xuand. Sex-Dependent Depression-Like Behavior Induced by Respiratory Administration of Aluminum Oxide Nanoparticles / International Journal of Environmental Research and Public Health. 2015. Vol. 12, N 12. P. 15692-15705. doi: 10.3390/ijerph121215011.

14. Xiao Bo Li, Hao Zheng, Ran Liu, Ge Yu Liang. Cell Activation and Function Alteration in Rat Livers Induced by Repeated Aluminum Oxide Nanoparticles Exposure / J. Advanced Materials Research. 2012. Vol. 486. P. 75-79.

15. Wolfgang G. Kreyling, Uwe Holzwarth, Carsten Schleh and al. Quantitative biokinetics over a 28 day period of freshly generated, pristine, 20 nm titanium dioxide nanoparticle aerosols in healthy adult rats after a single two-hour inhalation exposure / Particle and Fibre Toxicology. 2019. Vol. 16, N 29. P. 1-27.

16. Todd N.W., Luzina I.G., Atamas S.P. Molecular and cellular mechanisms of pulmonary fibrosis / Fibrogenesis Tissue Repair. 2012. Vol. 5, N 1. P. 11. doi:10.1186/1755-1536-5-11.

References

1. Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated October 31, 2007 No. 79 «On approval of the Concept of toxicological studies, risk assessment methodology, methods for identification and quantification of nanomaterials» (Registered in the Ministry of Justice of Russia on November 22, 2007, No. 10528). - URL: <https://base.garant.ru/12157240/> (accessed November 13, 2019). [In Russian]

2. Hygienic assessment of the content of nanosized solid aerosols in the air of the working zone of the production of energy-intensive materials (solid rocket fuels, explosives and gunpowder) at enterprises supervised by the FMBA of Russia: report on research (final report) / FSUE NII GTP FMBA of Russia; head B.N. Filatov; performed by: N.G. Britanov [et al.]. – Volgograd, 2017. – 94 p. – Inv. No. 1261. [In Russian]

3. Ulanova T.S., Gileva O.V., Volkova M.V. Determination of micro- and nanoscale particles in the air of the working area at mining enterprises. / Analiz riska dly azdorov'ya = Health risk analysis. 2015. Vol. 4. P. 44-49. [In Russian]

4. Justification of the maximum permissible concentrations (MPC) of aerosols in the working area (Temporary guidelines): approved Deputy Chief State Sanitary Doctor of the USSR 03.03.1983, Reg. No. 2673-83., M., 1983, P.83. [In Russian]

5. Guidelines for the formulation of studies to justify the sanitary standards of harmful substances in the air of the working zone: approved The Chief State Sanitary Doctor of the USSR 04.04.1980, Reg. No. 2163-80, M., 1980, P.20. [In Russian]

6. GOST 33044-2014. Principles of Good Laboratory Practice. 2015-08-01, Minsk: Mezhhgosudarstvennyy sovet po standartizatsii, metrologii i sertifikatsii = Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification; M.: Standartinform, 2015, P.16 [In Russian]

7. Order of the Russian Ministry of Health dated April 01.02.2016 No.199n «On Approving the Rules of Good Laboratory Practice» (registered with the Russian Ministry of Justice on 15.08.2016, No. 43232) [Electronic resource] / Access mode: <http://pravo.gov.ru>. - The title from the screen. – Appeal date: 04.10.2019. [In Russian]

8. Plokhinsky N.A. Biometrics Algorithms / N. A. Plokhinsky. M.: Izdatel'stvo Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Publishing House of Moscow State University, 1980. 150 p. [In Russian]

9. Assessment of the respiratory tract reaction to the single intratracheal administration of

nano- and micro-sized particles of aluminum oxide / Zemlyanova M.A., Zaitseva N. V., Ignatova A.M. Stepankov M.S.]. *Gigiyena i sanitariya* = Hygiene and sanitation/ 2019, No. 2, P.196-202. [In Russian]

10. Yong-Soon Kim, Yong-Hyun Chung, Dong-Seok Seo, Hyun-Sung Choi and Cheol-Hong Lim. Twenty-Eight-Day Repeated Inhalation Toxicity Study of Aluminum Oxide Nanoparticles in Male Sprague-Dawley Rats / *Toxicol. Res.* 2018. Vol. 34, N. 3. P. 343-354.

11. Pauluhn J. Pulmonary toxicity and fate of agglomerated 10 and 40 nm aluminum oxyhydroxides following 4-week inhalation exposure of rats: toxic effects are determined by agglomerated, not primary particle size / *Toxicol. Sci.* 2009. Vol.109, N 1. P 152-167.

12. Chen L, Yokel RA, Hennig B, Toborek M. Manufactured aluminum oxide nanoparticles decrease expression of tight junction proteins in brain vasculature / *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2008. Vol. 3, N 4. P. 286-295.

13. Xin Zhang, Xin Zhang, Yan Xu and al. Sex-Dependent Depression-Like Behavior Induced by Respiratory Administration of Aluminum Oxide Nanoparticles / *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 2015. Vol. 12, N 12. P. 15692-15705. doi: 10.3390/ijerph121215011.

14. Xiao Bo Li, Hao Zheng, Ran Liu, Ge Yu Liang. Cell Activation and Function Alteration in Rat Livers Induced by Repeated Aluminum Oxide Nanoparticles Exposure / *J. Advanced Materials Research.* 2012. Vol. 486. P. 75-79.

15. Wolfgang G. Kreyling, Uwe Holzwarth, Carsten Schleh and al. Quantitative biokinetics over a 28 day period of freshly generated, pristine, 20 nm titanium dioxide nanoparticle aerosols in healthy adult rats after a single two-hour inhalation exposure / *Particle and Fibre Toxicology.* 2019. Vol. 16, N 29. P. 1-27.

16. Todd N.W., Luzina I.G., Atamas S.P. Molecular and cellular mechanisms of pulmonary fibrosis / *Fibrogenesis Tissue Repair.* 2012. Vol. 5, N 1. P. 11. doi:10.1186/1755-1536-5-11.