

УДК 661.862'022; 613.63

## НАНОРАЗМЕРНЫЙ ОКСИД АЛЮМИНИЯ – БИОНАКОПЛЕНИЕ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРИ АЛИМЕНТАРНОМ ПОСТУПЛЕНИИ

© 2021 г. Н. В. Зайцева<sup>1</sup>, М. А. Землянова<sup>1,2,3,\*</sup>, М. С. Степанков<sup>1,2</sup>, А. М. Игнатова<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, Пермь, Россия

<sup>2</sup> Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

<sup>3</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет, Пермь, Россия

\*E-mail: zem@fcrisk.ru

Поступила в редакцию 31.08.2020 г.

После доработки 09.10.2020 г.

Принята к публикации 25.01.2021 г.

Множественное пероральное поступление наночастиц оксида алюминия ( $Al_2O_3$ ) в течение 10 сут в суммарной дозе 21 895 мг/кг массы тела вызывает гибель 50% особей экспонируемой группы, в то время как при экспозиции микрочастицами  $Al_2O_3$  в аналогичной дозе гибель составляет 25%. Концентрации алюминия после экспозиции наноматериалом повышаются относительно контрольных уровней в головном мозге, печени и крови экспонированных животных в 4.40, 1.23 и 1.48 раза соответственно, после экспозиции микроматериалом – в головном мозге в 3.59 раза и крови в 1.82 раза. Концентрации алюминия при действии наноматериала выше, чем при действии микроматериала, в головном мозге в 1.23 раза и печени в 1.41 раза. При экспозиции нанодисперсным  $Al_2O_3$  зафиксированы острое венозное полнокровие печени, эозинофильная инфильтрация слизистой желудка, гиперплазия лимфоидной ткани и увеличение объема белой пульпы селезенки до 70%. При экспозиции микрочастицами  $Al_2O_3$  патоморфологические изменения отмечены только в тканях селезенки в виде гиперплазии лимфоидной ткани и увеличения объема белой пульпы до 50%. Интратрахеальная инстилляционная нано- и микрочастиц  $Al_2O_3$  вызывает повреждения альвеолярных макрофагов. При действии наночастиц степень повреждений и их количество выше в 2.50 и 8 раз соответственно, диаметр повреждений в 2.25 раза меньше. Высокий показатель гибели животных, особенности бионакопления, патоморфологических изменений тканей органов при пероральной экспозиции и повреждения альвеолярных макрофагов при интратрахеальной экспозиции наночастицами  $Al_2O_3$  указывают на большую токсичность наноматериала при алиментарном поступлении в организм в сравнении с микродисперсным аналогом.

DOI: 10.1134/S1992722321020187

### ВВЕДЕНИЕ

Пищевая промышленность является одной из перспективных отраслей применения нанотехнологий в хозяйственной деятельности человека [1]. Включение наноматериалов в состав продуктов питания и пищевых упаковок в качестве красителей, биоцидных компонентов, противослеживающих добавок обеспечивает эффективное повышение качества продукции, выпускаемой предприятиями данной отрасли. При всех своих положительных свойствах наноматериалы обладают высокой проникающей способностью через защитные барьеры организма и реакционной активностью, следствием чего может являться увеличение токсических свойств при поступлении в организм в процессе производства и потребления

продукции, содержащей в своем составе наноматериалы [2].

Одним из активно применяющихся в пищевой промышленности материалов являются наночастицы (НЧ) оксида алюминия ( $Al_2O_3$ ). Наноразмерный  $Al_2O_3$  входит в состав консервантов, красителей, противослеживающих добавок, эмульгаторов, соевых детских смесей, защитных антибактериальных упаковок [3–5]. Поступление в организм человека НЧ  $Al_2O_3$  возможно и через продукцию сельского хозяйства, для выращивания которой используют регуляторы роста растений, содержащие в своем составе соединения, образующиеся в процессе гидролиза НЧ оксида алюминия [6].

С помощью *in vitro*- и *in vivo*-исследований установлено, что НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  способны генерировать активные формы кислорода [7], обладают цитотоксичностью [8], накапливаются в различных органах и тканях, вызывая патоморфологические изменения [7, 9], воздействуют на протеомный профиль [10], имеют такие отдаленные эффекты токсичности, как канцерогенность и генотоксичность [11, 12].

В связи с активным применением в пищевой промышленности НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  возрастает риск алиментарного поступления в организм наноматериала, обладающего токсическими свойствами, что может привести к увеличению числа случаев заболеваний центральной нервной системы, желудочно-кишечного тракта и крови [13]. Исходя из сказанного выше, исследования, направленные на изучение токсиколого-гигиенических свойств НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  при алиментарном поступлении в организм, приобретают особую актуальность.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве тестируемого образца использовали порошок нанодисперсного  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (CAS 1344-28-1, продукт № 718475) производства компании Sigma Aldrich (США). Для сравнительного анализа использовали порошок микродисперсного  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (CAS 1344-28-1, продукт № 265497) производства той же компании.

Оценка размера частиц  $\text{Al}_2\text{O}_3$  выполнена в водных суспензиях методом динамического рассеяния света (ДРС) на анализаторах Horiba LB-550 (Horiba, Япония) и Microtrac S3500 (Microtrac, США), а также в виде нативных порошков методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на микроскопе высокого разрешения S-3400N (НИТАСНИ, Япония). Исследование и оценка удельной площади поверхности частиц  $\text{Al}_2\text{O}_3$  выполнены методом БЭТ (Брунауэра, Эммета и Теллера) на приборе ASAP 2020 (Micromeritics, США).

Исследования на животных проведены в соответствии с требованиями этического комитета ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения и Руководством по уходу и использованию лабораторных животных [14]. Исследование токсичности НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  при алиментарном поступлении осуществляли в экспериментах по изучению действия тестируемого наноматериала при многократном пероральном и однократном интратрахеальном введении. Исследование токсического действия НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  при многократной пероральной экспозиции проводили на половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250–300 г в соответствии с методикой, предложенной в [15]. Экспериментальных животных ( $n = 24$ ) случай-

ным образом распределили на опытную группу ( $n = 8$ ) для исследования водной суспензии нанопорошка, группу сравнения ( $n = 8$ ) – для исследования микропорошка, и контрольную группу ( $n = 8$ ), не экспонированную изучаемыми материалами. Начальная исследуемая доза как для нано-, так и для микровещества составила 1510 мг/кг массы тела, что соответствует 1/10 от среднелетальной дозы ( $\text{LD}_{50}$ )  $\text{Al}_2\text{O}_3$  [16]. Каждые четверо суток дозу увеличивали в 1.5 раза. Для проведения пероральных экспозиций порошки нано- и микродисперсного  $\text{Al}_2\text{O}_3$  переводили в форму суспензий на основе бидистиллированной воды. Необходимые концентрации суспензий рассчитывали с учетом средней массы животных в экспериментальных группах и объемом введения 1.5 см<sup>3</sup>/крысу. Для равномерного распределения частиц полученные водные суспензии подвергали обработке ультразвуковым гомогенизатором Sonopuls Hd (Bandelin, Германия) при комнатной температуре в течение 15 мин в режиме непрерывной пульсации на 80%-ной мощности. Экспозицию осуществляли до достижения гибели 50% особей в одной из групп. По показателю гибели установлено значение  $\text{LD}_{50}$  при многократном введении.

Выживших животных (опытная группа – 4 особи, группа сравнения – 6, контрольная группа – 8) для изучения особенностей бионакопления и патоморфологических изменений выводили из опыта через 24 ч после последней экспозиции методом цервикальной дислокации. Для изучения бионакопления алюминия у экспериментальных животных отбирали печень, почки, головной мозг и кровь. Забор крови осуществляли до эвтаназии из подъязычной вены в объеме 3 см<sup>3</sup>. Каждый отобранный орган делили на три части примерно одинаковой массы, две из них использовали для определения концентрации алюминия, одну – для гистологического исследования. В целом с учетом образцов крови концентрацию исследуемого вещества определяли в 126 образцах (количество образцов опытной группы – 28, группы сравнения – 42, контрольной группы – 56). Для установления патоморфологических изменений тканей органов проводили гистологическое исследование печени, почек, головного мозга, желудка и селезенки на 90 образцах (количество образцов опытной группы – 20, группы сравнения – 30, контрольной группы – 40).

Для определения концентрации алюминия отобранные образцы подвергали термическому озолению в течение 9 ч в муфельной печи при температуре 450–500°C. Количественное определение содержания алюминия в образцах осуществляли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой на масс-спектрометре Agilent 7500cx (Agilent, США) с октопольной реакцион-

ной/столкновительной ячейкой. В качестве газореактанта использовали гелий.

Для установления патоморфологических изменений тканей органов экспериментальных животных проведено гистологическое исследование. Извлеченные образцы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина с добавлением фосфатного буфера. Дегидратацию фиксированных кусочков тканей проводили в автоматическом гистологическом процессоре "Excelsior ES" (Thermo Scientific, Германия). Гистологические препараты изготавливали из парафиновых срезов толщиной 3–4 мкм, окрашивая по общепринятой методике гематоксилином и эозином в работе-окрашивателе "Varistain Gemini ES" (Thermo Scientific, Германия). Микрофотографии сделаны с помощью камеры "Mikroskopkamera AxioCam ERc 5s" (Carl Zeiss, Германия).

При алиментарном поступлении в организм некоторая доля НЧ может проникнуть в легкие интратрахеальным путем. В связи с этим проведено исследование реакции альвеолярных макрофагов при интратрахеальной экспозиции НЧ  $Al_2O_3$ . В качестве биологической модели использовали крыс-самцов линии Wistar массой 250–300 г. Экспериментальных животных ( $n = 27$ ) случайным образом распределили на три группы: опытная группа ( $n = 9$ ) – животные, экспонированные суспензией нанодисперсного  $Al_2O_3$ , приготовленной на основе стерильного изотонического 0.9%-ного раствора хлорида натрия (0.9% NaCl), группа сравнения ( $n = 9$ ) – животные, экспонированные суспензией микродисперсного аналога на той же основе, контрольная группа ( $n = 9$ ) – животные, получавшие стерильный изотонический физиологический раствор без тестируемых веществ. Для инстиляции использовали суспензии в концентрации  $0.013 \text{ г/см}^3$ , вводимые интратрахеально под эфирным масочным наркозом в объеме  $0.4 \text{ см}^3$  на крысу. Животные контрольной группы получали 0.9% NaCl в аналогичном объеме. Через 24 ч после введения суспензий экспериментальным животным проводили однократное промывание дыхательных путей стерильным изотоническим физиологическим раствором в объеме  $10 \text{ см}^3$ . Полученные промывные воды центрифугировали в течение 4 мин при 1000 об./мин. Надосадочную жидкость декантировали, из клеточного осадка готовили мазки. Высушенные препараты фиксировали метиловым спиртом в течение 1 мин и окрашивали азур-эозином по Романовскому в течение 20 мин. Для определения количества и диаметра повреждений проводили анализ цифровых изображений мазков, полученных с помощью светового микроскопа DM 1000 (Leica, Германия) с иммерсионной системой с использованием универсального программного обеспечения ImageJ-FiJi. Степень

повреждения макрофагов оценивали как долю повреждений от общей удельной площади их поверхности, вычисляемой по величине среднего размера единичного повреждения и частоте расположения повреждений на поверхности.

Математическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью параметрических методов статистики, предварительно оценивали соответствие полученных результатов закону нормального распределения, выполняли расчет выборочного среднего ( $M$ ) и стандартной ошибки ( $m$ ), проверку гипотезы о совпадении выборочных средних с использованием  $t$ -критерия Стьюдента. Различия полученных результатов считали статистически значимыми при  $p \leq 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам ДРС установлено, что средний размер частиц нанопорошка  $Al_2O_3$  в водной среде составил  $129.90 \pm 11.46 \text{ нм}$ , что в 103.62 раза меньше данного показателя частиц микродисперсного аналога ( $13.46 \pm 3.14 \text{ мкм}$ ) (рис. 1). При верификации методом СЭМ средний размер частиц нанопорошка  $Al_2O_3$  составил  $40.48 \pm 6.07 \text{ нм}$ , что в 139.58 раза меньше данного показателя у микродисперсного аналога ( $5.65 \pm 0.74 \text{ мкм}$ ) (рис. 2). Удельная площадь поверхности НЧ составила  $113 \text{ м}^2/\text{г}$ , что в 161.43 раза больше значения у микрочастиц ( $0.70 \text{ м}^2/\text{г}$ ).

Гибель 50% ( $n = 4$ ) особей опытной группы при многократной пероральной экспозиции НЧ  $Al_2O_3$  достигнута на 10-е сутки эксперимента, суммарная доза тестируемого вещества составила  $21895 \text{ мг/кг}$  массы тела. В группе сравнения гибель животных, экспонированных микроматериалом в той же дозе, составила 25% ( $n = 2$ ).

После многократного перорального введения НЧ  $Al_2O_3$  отмечено увеличение концентрации алюминия относительно контрольных значений в головном мозге, печени и крови экспонированных животных в 4.40 ( $p < 0.0001$ ), 1.23 ( $p = 0.044$ ) и 1.48 раза ( $p = 0.002$ ) соответственно. После экспозиции микрочастицами  $Al_2O_3$  повышение концентрации алюминия относительно контроля установлено в головном мозге в 3.59 раза ( $p = 0.001$ ) и крови в 1.82 раза ( $p = 0.007$ ). Отмечено различие показателей бионакопления алюминия после экспозиций нано- и микрочастицами исследуемого химического соединения. При действии нанодисперсного вещества отмечено повышение концентрации алюминия в головном мозге в 1.23 раза ( $p = 0.036$ ) и печени в 1.41 раза ( $p = 0.020$ ) относительно данного показателя при действии микродисперсного аналога. У животных экспонируемых групп статистически достоверных изменений по показателю концентрации

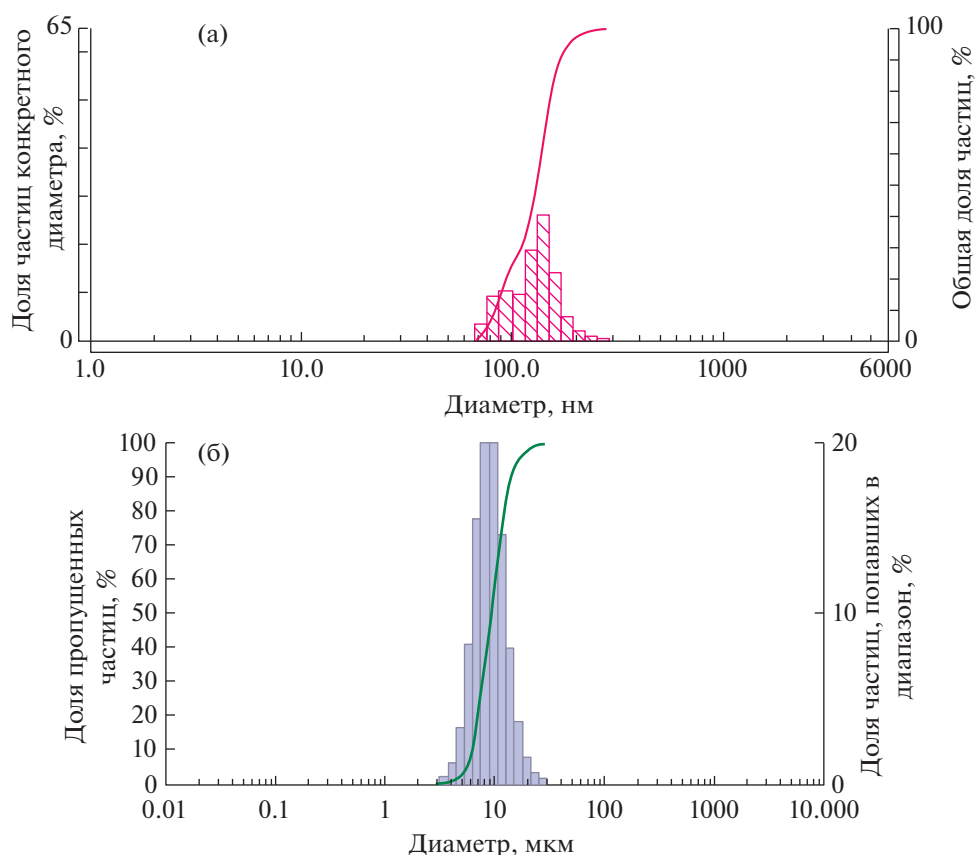


Рис. 1. Гистограмма распределения по размеру в водной суспензии нано- (а) и микрочастиц  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (б).

алюминия в почках относительно контроля не установлено (табл. 1).

Гистологическими методами исследования у животных опытной группы зафиксированы пато-

морфологические изменения тканей органов в виде острого венозного полнокровия печени (рис. 3) и эозинофильной инфильтрации желудка (рис. 4), чего не отмечено у экспериментальных

Таблица 1. Результаты исследования бионакопления алюминия в органах и тканях крыс линии Wistar при многократной пероральной экспозиции водной суспензией нано- и микродисперсного  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ( $p \leq 0.05$ )

Группа животных	Показатели	Концентрация алюминия в органе, мкг/г				
		Мозг	Печень	Почки	Кровь	
Контрольная группа	Среднее значение ( $M \pm m$ )	$0.28 \pm 0.002$	$0.62 \pm 0.093$	$0.90 \pm 0.202$	$0.06 \pm 0.015$	
Группа сравнения	Среднее значение ( $M \pm m$ )	$0.99 \pm 0.180$	$0.54 \pm 0.161$	$0.94 \pm 0.111$	$0.11 \pm 0.033$	
	Межгрупповое различие с контролем ( $p$ )	0.001	0.437	0.695	0.007	
	Кратность различий с контролем	выше	3.59	1.04	1.82	
		ниже	0.35			
Опытная группа	Среднее значение ( $M \pm m$ )	$1.21 \pm 0.171$	$0.77 \pm 0.114$	$0.97 \pm 0.278$	$0.09 \pm 0.009$	
	Межгрупповое различие с контролем ( $p$ )	<0.0001	0.044	0.619	0.002	
	Кратность различий с контролем	выше	4.40	1.23	1.08	1.48
		ниже				
	Межгрупповое различие группой сравнения ( $p$ )	0.036	0.020	0.786	0.201	
Кратность различий с группой сравнения	выше	1.23	1.41	1.04		
	ниже				1.23	

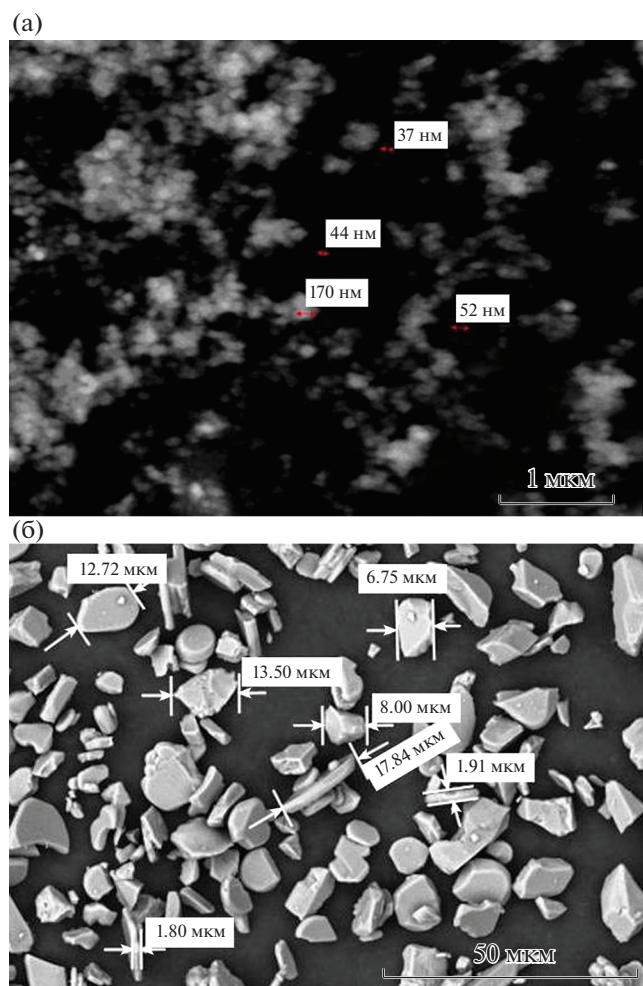


Рис. 2. СЭМ-изображение нано- (а) и микрочастиц  $Al_2O_3$  (б).

животных групп сравнения и контроля. Как в опытной группе, так и в группе сравнения установлены гиперплазия лимфоидной ткани и увеличение объема белой пульпы селезенки (рис. 5). Действие НЧ  $Al_2O_3$  на селезенку более выражено и приводит к увеличению объема белой пульпы на 70%, что на 20% больше значения данного показателя при действии микроразмерного аналога (50%). У животных экспонируемых групп патоморфологических изменений тканей почек не установлено.

Результаты исследования жидкости бронхоальвеолярного лаважа, извлеченной через сутки после однократной интратрахеальной инстилляцией нано- и микрочастиц  $Al_2O_3$ , позволили установить повреждение альвеолярных макрофагов у животных обеих экспонированных групп. При этом в опытной группе среднее число повреждений составило  $2.40 \pm 0.04$  шт./ $мкм^2$ , что в 8 раз больше, чем в группе сравнения ( $0.30 \pm 0.06$  шт./ $мкм^2$ ). Средний диаметр поврежде-

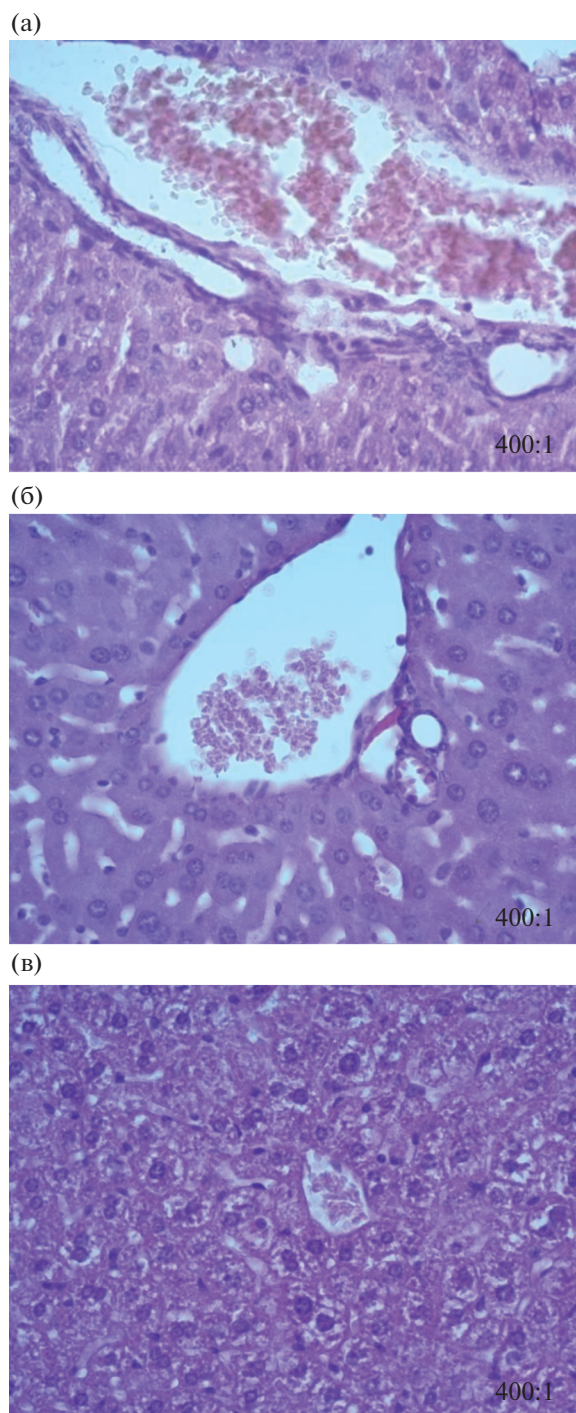
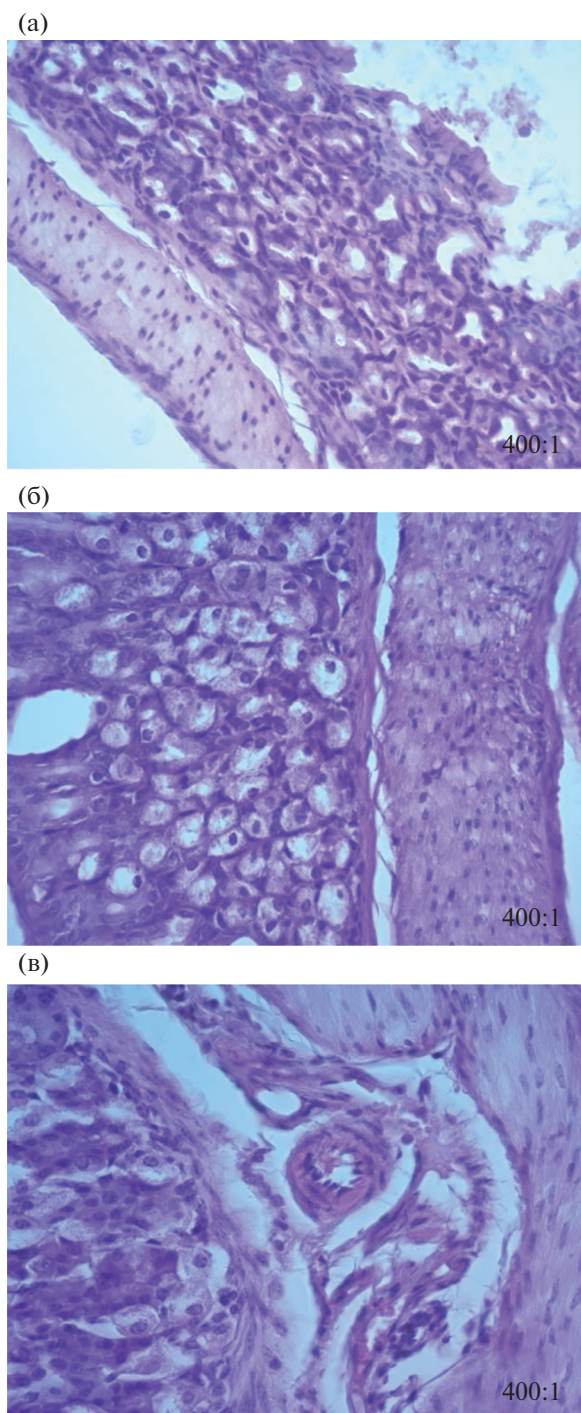


Рис. 3. Микрофотографии гистологических препаратов тканей печени крыс линии Wistar (окраска гематоксилин-эозином, масштаб 400:1): а – опытная группа, б – группа сравнения, в – контрольная группа.

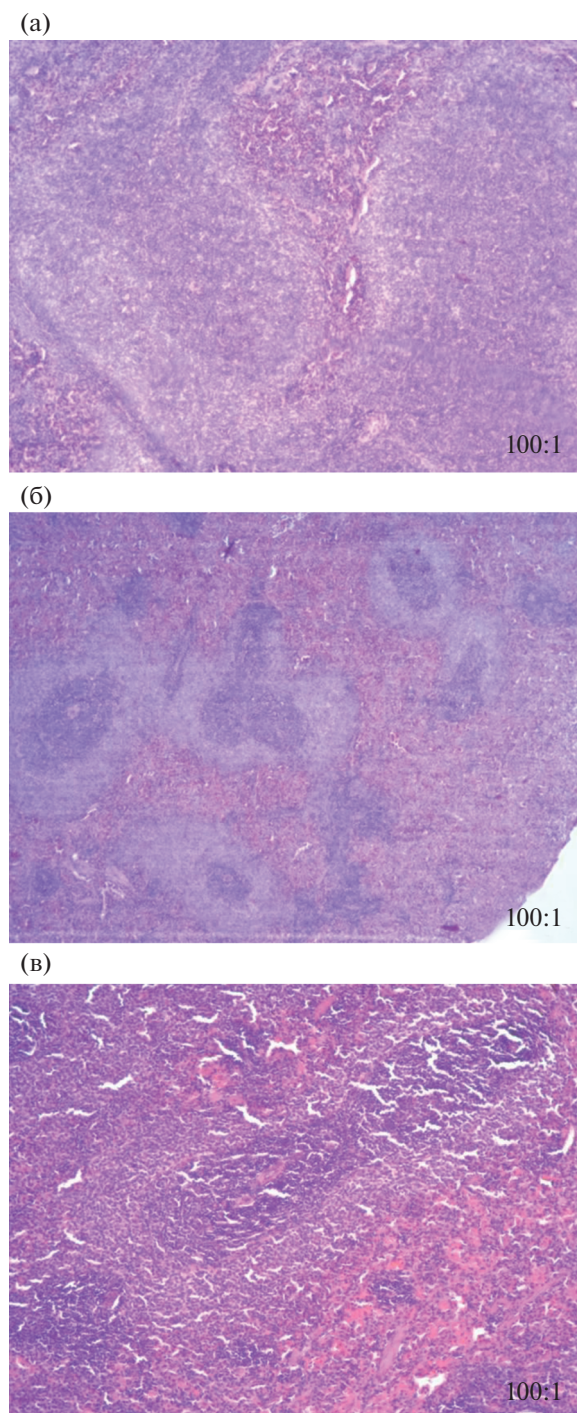
ний, вызываемых действием НЧ  $Al_2O_3$ , составил  $0.40 \pm 0.05$   $мкм$ , что в 2.25 раза меньше данного показателя при экспозиции микрочастицами ( $0.90 \pm 0.08$   $мкм$ ). Степень повреждения альвеолярных макрофагов у животных опытной группы



**Рис. 4.** Микрофотографии гистологических препаратов тканей желудка крыс линии Wistar (окраска гематоксилин-эозином, масштаб 400:1): а – опытная группа, б – группа сравнения, в – контрольная группа.

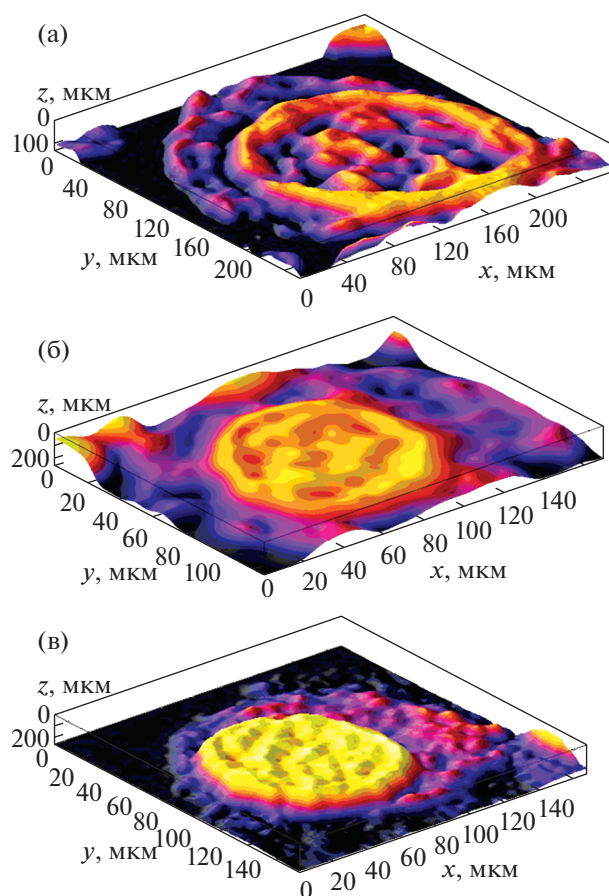
достигает 18.00%, что в 2.50 раза больше значения в группе сравнения (7.20%) (рис. 6).

Обобщение полученных результатов показало, что исследованный образец  $Al_2O_3$  является наноматериалом, так как содержит в своем составе ча-



**Рис. 5.** Микрофотографии гистологических препаратов тканей селезенки крыс линии Wistar (окраска гематоксилин-эозином, масштаб 100:1): а – опытная группа, б – группа сравнения, в – контрольная группа.

стицы размером до 100 нм, обладающие высокой удельной площадью поверхности по сравнению с микрочастицами. Методом ДРС установлено, что средний размер частиц нанопорошка составляет  $129.90 \pm 11.46$  нм, методом СЭМ –  $40.48 \pm 6.07$  нм. Данную разницу можно объяснить вероятной аг-



**Рис. 6.** Трехмерная реконструкция морфологических параметров альвеолярных макрофагов крыс линии Wistar: а – опытная группа, б – группа сравнения, в – контрольная группа.

ломерацией НЧ  $Al_2O_3$  в связи с повышением  $\zeta$ -потенциала в средах со значением pH, близких к 7 [17]. Несферическая форма НЧ  $Al_2O_3$  может также являться одной из причин искажения результатов, полученных методом ДРС. Для НЧ  $Al_2O_3$  при многократном пероральном введении установлен показатель  $LD_{50}$ , равный 21 895 мг/кг массы тела, в то время как при действии микрочастиц в аналогичной дозе достигается лишь  $LD_{25}$ . Многократная пероральная экспозиция нано- и микропоразмерным  $Al_2O_3$  вызывает увеличение концентрации алюминия в головном мозге и крови экспериментальных животных. Материальная кумуляция НЧ более выражена по сравнению с микрочастицами, на что указывают более высокие значения концентраций исследуемого вещества в перечисленных выше органах, а также увеличение данного показателя в тканях печени, что не зафиксировано при действии микрочастиц. Присутствие алюминия в организме неэкспонированных животных можно объяснить низкой степенью биофильности данного элемента. При-

мерная доля содержания алюминия в организме человека составляет около  $10^{-5}\%$  от общего количества веществ, в том числе отмечено его наличие в крови (0.20 мг/дм<sup>3</sup>), печени (1–10 мг/кг), почках (0.40 мг/г), головном мозге (2.00 мкг/кг) [18]. В тканях печени животных опытной группы установлено острое венозное полнокровие, что указывает на затрудненное кровообращение, вызванное, вероятно, увеличением количества тромбоцитов в результате прямого действия НЧ  $Al_2O_3$  [19, 20]. Эозинофильная инфильтрация желудка и гиперплазия тканей селезенки могут указывать на развитие воспалительного процесса в результате увеличения в крови уровня медиаторов воспаления, индуцированного действием активных форм кислорода, генерируемых наноразмерным  $Al_2O_3$  [21–24]. Альвеолярные макрофаги животных опытной группы после интратрахеальной инстиляции НЧ  $Al_2O_3$  обладают большим количеством повреждений меньшего диаметра, чем при инстиляции частиц микропоразмерного аналога, что связано с размером частиц и разницей в их количестве в вводимых суспензиях, обусловленной разной насыпной плотностью нано- и микроматериала.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований установлено, что бионакопление наночастиц  $Al_2O_3$  при многократной пероральной экспозиции более выражено, чем у микрочастиц, и происходит преимущественно в тканях головного мозга, печени и крови. Наноматериал более токсичен относительно микропоразмерного аналога, на что указывают гибель большего числа животных опытной группы при одинаковой дозе пероральной экспозиции, более выраженные патоморфологические изменения тканей селезенки, наличие изменений тканей желудка и печени, не установленные у животных группы сравнения, а также более выраженная степень повреждения альвеолярных макрофагов при интратрахеальном поступлении исследуемого наноматериала. Полученные результаты необходимо учитывать для повышения эффективности обоснования мер профилактики для производителей и потребителей пищевой продукции, содержащей в своем составе наночастицы  $Al_2O_3$ .

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singh T., Shukla S., Kumar P. // Front. Microbiol. 2017. V. 8. P. 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01501>
2. Sukhanova A., Bozrova S., Sokolov P. et al. // Nanoscale Res. Lett. 2018. V. 13. № 44. P. 21. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2457-x>

3. *Batt C., Tortorello M.* Encyclopedia of food microbiology. Second edition. San Diego: Academic Press Elsevier, 2014. 1014 p.
4. *Krewski D., Yokel R., Nieboer E. et al.* // J. Toxicol. Environ. Health. B. 2007. V. 10. P. 1.  
<https://doi.org/10.1080/10937400701597766>
5. *Alshatwi A.A., Subbarayan P.V., Ramesh E.* // Food Addit. Contam. A. Chem. 2013. V. 30. № 1. P. 1.  
<https://doi.org/10.1080/19440049.2012.729160>
6. Единая компьютерная база данных по наноматериалам и нанотехнологиям, используемым в Российской Федерации (реестр) // Информационно-аналитический центр по проблеме безопасности нанотехнологий и наноматериалов.  
[http://web.ion.ru/GM\\_1/GM.aspx](http://web.ion.ru/GM_1/GM.aspx)
7. *Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M. et al.* // Mutagenesis. 2009. V. 24. № 3. P. 245.  
<https://doi.org/10.1093/mutage/ger003>
8. *Arul Prakash F., Dushendra Babu G.J., Lavanya M. et al.* // Int. J. Nanotechnol. Applications. 2011. V. 5. № 2. P. 99.
9. *Park E.-J., Sim J., Kim Y.* // Arch. Toxicol. 2015. V. 89. № 3. P. 371.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-014-1256-0>
10. *El-Hussainy el-H.M., Hussein A.M., Abdel-Aziz A. et al.* // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2016. V. 94. № 8. P. 868.  
<https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0446>
11. *Di Virgilio A.L., Reigosa M., Arnal P. M. et al.* // J. Hazard Mater. 2010. V. 177. № 1–3. P. 711.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.089>
12. International Agency for Research on Cancer.  
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
13. Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2004. 143 с.
14. Руководство по уходу и использованию лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals) // National Research Council of the national academies. Washington: The national academies press, 2011. 248 p.
15. *Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G. et al.* // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1961. V. 130. P. 336.
16. *Morsy G., El-Ala K., Ali A.* // Toxicol. Ind. Health. 2016. V. 32. № 2. P. 344.  
<https://doi.org/10.1177/0748233713498449>
17. *Mui J., Ngo J., Kim B.* // Nanomaterials (Basel). 2016. V. 6. № 5. P. 1.  
<https://doi.org/10.3390/nano6050090>
18. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учебное пособие / Под. ред. проф. Калетиной Н.И. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 1016 с.
19. Макарова В.Г., Макарова М.Н. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: Справочник. СПб: Лема, 2013. 116 с.
20. *Park E.-J., Kim H., Kim Y. et al.* // Toxicol. Environ. Chem. 2011. V. 93. № 1. P. 120.  
<https://doi.org/10.1080/02772248.2010.495191>
21. *Gleich G.J.* // J. Allergy Clin. Immunol. 2000. V. 105. № 4. P. 651.  
<https://doi.org/10.1067/mai.2000.105712>
22. *Pease C., Rucker T., Birk T.* // Chem. Res. Toxicol. 2016. V. 29. № 3. P. 237.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00448>
23. *Park E.-J., Kim S.N., Kang M.-S. et al.* // J. Immunotoxicol. 2016. V. 13. № 4. P. 439.  
<https://doi.org/10.3109/1547691X.2015.1122116>
24. *Mittal M., Siddiqui M.R., Tran K. et al.* // Antioxid. Redox Signal. 2014. V. 20. № 7. P. 1126.  
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>