

Землянова М.А.<sup>1,2,3</sup>, Зайцева Н.В.<sup>1,4</sup>, Степанков М.С.<sup>1</sup>

## Особенности токсического действия нано- и микрочастиц оксида алюминия при многократной ингаляционной экспозиции

<sup>1</sup>ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 614045, Пермь, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», 614990, Пермь, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет», 614990, Пермь, Россия;

<sup>4</sup>ФГБУ «Российская академия наук», 119071, Москва, Россия

**Введение.** Наночастицы оксида алюминия ( $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$ ) имеют широкое практическое применение в сфере нанотехнологий, связанных с химической, пищевой, медицинской парфюмерно-косметической отраслями промышленности. В условиях развития наноиндустрии использование  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  может обуславливать загрязнение атмосферного воздуха, формирующее риски для здоровья населения в условиях длительной аэрогенной экспозиции. Детальное исследование патогенетических особенностей токсического действия  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  и сравнительный анализ с микроразмерным химическим аналогом при ингаляционной экспозиции направлены на повышение эффективности мер профилактики.

**Материалы и методы.** Исследованы физические свойства нано- и микрочастиц  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . В эксперименте на крысах линии Wistar выполнен сравнительный анализ и дана характеристика патогенетических особенностей токсического действия частиц при многократной ингаляционной экспозиции.

**Результаты.** По параметрам размера, формы, площади поверхности и суммарного объёма пор изучаемый образец является наноматериалом, существенно отличающимся от микроразмерного аналога. Воздействие  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  по сравнению с микрочастицами (МЧ) вызывает более выраженные изменения поведенческих реакций крыс. При экспозиции  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  установлено статистически значимое увеличение концентрации алюминия относительно контроля в 1,62–55,2 раза в лёгких, печени, головном мозге и крови. При этом концентрация изучаемого элемента в данных органах выше в 1,55–7,65 раза в сравнении с МЧ. Экспозиция  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  вызывает изменение биохимических показателей относительно контроля (повышение активности АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ, концентрации билирубина прямого, ГАМК, глутаминовой кислоты, МДА) и группы сравнения (АЛТ, АСТ, ЩФ, ГАМК, МДА, глутаминовая кислота). При воздействии  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  патоморфологические изменения установлены в тканях лёгких, головного мозга, сердца и печени, тогда как при воздействии микрочастиц – только в тканях лёгких. Степень изменений значительно больше при экспозиции  $\text{HЧ}$ , а изменения структуры тканей охватывают большее число органов.

**Ограничения исследования.** Исследование выполнено только при многократной ингаляционной экспозиции  $\text{HЧ}$  и  $\text{MЧ Al}_2\text{O}_3$  на крысах линии Wistar.

**Заключение.**  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  обладают большей степенью токсичности относительно микроразмерного химического аналога, о чём свидетельствуют большее число органов бионакопления, более выраженные патоморфологические и патофункциональные нарушения. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке гигиенических рекомендаций, направленных на предупреждение и минимизацию негативных эффектов  $\text{HЧ Al}_2\text{O}_3$  на здоровье человека.

**Ключевые слова:** оксид алюминия; наночастицы; токсичность; патоморфологические изменения; бионакопление; ингаляционная экспозиция

**Соблюдение этических стандартов.** Исследование выполнено в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123), и требованиями этического комитета ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (протокол № 5 от 20.01.2021 г.).

**Для цитирования:** Землянова М.А., Зайцева Н.В., Степанков М.С. Особенности токсического действия нано- и микрочастиц оксида алюминия при многократной ингаляционной экспозиции. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(5): 502–508. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-502-508> <https://elibrary.ru/zhlqj>

**Для корреспонденции:** Землянова Марина Александровна, доктор мед. наук, профессор, зав. отд. биохимических и цитогенетических методов диагностики ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, Пермь. E-mail: zem@fcrisk.ru

**Участие авторов:** Землянова М.А. – концепция и дизайн исследования, обработка материала, написание текста; Зайцева Н.В. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка материала, редактирование; Степанков М.С. – сбор и обработка материала. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

**Финансирование.** Исследование выполнено за счёт федерального бюджета.

Поступила: 31.03.2023 / Принята к печати: 31.05.2023 / Опубликовано: 20.06.2023

Marina A. Zemlyanova<sup>1,2,3</sup>, Nina V. Zaitseva<sup>1,4</sup>, Mark S. Stepankov<sup>1</sup>

## Peculiarities of toxic effects produced by aluminum oxide nano- and microparticles under multiple inhalation exposure

<sup>1</sup>Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation;

<sup>2</sup>Perm State National Research University, Perm, 614990, Russian Federation;

<sup>3</sup>Perm National Research Polytechnic University, Perm, 614990, Russian Federation;

<sup>4</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071, Russian Federation

**Introduction.** Aluminum oxide nanoparticles ( $Al_2O_3$  NPs) are widely used in nanotechnologies employed in various branches including chemical, food, and medical industry and perfume and cosmetics production. This high demand for  $Al_2O_3$  NPs, given the wide-scale development of nanoindustries, can, in its turn, lead to ambient air pollution that creates public health risks under long-term exposure to it. Given that, it seems relevant to perform profound investigation with its focus on pathogenetic features of toxic effects produced by these nanoparticles and comparatively analyze them with effects produced by a micro-sized chemical analog under inhalation exposure to introduce more effective prevention.

**Materials and methods.** We examined chemical properties of  $Al_2O_3$ , nano- and microparticles (MPs) in an experiment on Wistar rats, comparatively analyzed the results and described pathogenetic features of toxic effects produced by the examined particles under multiple inhalation exposure.

**Results.** The examined samples were a nanomaterial judging by such parameters as particle size, shape, surface area, and total pore volume. They differed substantially from their micro-sized analog. Exposure to  $Al_2O_3$  NPs causes more pronounced changes in the behaviour of rats relative to MPs. Under exposure to  $Al_2O_3$  NPs, aluminum concentrations were statistically significantly by 1.62–55.2 times higher in the lungs, liver, brain and blood. The concentration of the examined elements was by 1.55–7.65 times higher in these organs as compared to exposure to the micro-sized particles. Exposure to  $Al_2O_3$  NPs induced changes in biochemical indicators of negative effects against the control (exposure to micro-sized particles). We established higher activity of ALT, AST, AP, LDH, and elevated levels of direct bilirubin, GABA, glutamine acid, and MDA against the same indicators in the control group. Pathomorphological changes were identified in the lungs, brain, heart, and liver under exposure to  $Al_2O_3$  NPs whereas exposure to the micro-sized analog induced such changes only in the lungs. Exposure to NPs induced more apparent changes in tissue structures in many organs.

**Limitations.** The study involved only multiple inhalation exposure to  $Al_2O_3$  NPs and MPs in an experiment on Wistar rats.

**Conclusion.**  $Al_2O_3$  NPs are more toxic than their micro-sized chemical analog; this is evidenced by a greater number of organs where bioaccumulation occurs, more apparent pathomorphological changes and pathological functional disorders. The study results should be considered when developing hygienic recommendations aimed at preventing and minimizing negative effects produced by  $Al_2O_3$  NPs on human health.

**Keywords:** aluminum oxide; nanoparticles; toxicity; pathomorphological changes; bioaccumulation; inhalation exposure

**Compliance with ethical standards.** The study was accomplished in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123) and requirements of the Local Committee on Ethics of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies (the Meeting Report No. 5 issued on January 20, 2021).

**For citation:** Zemlyanova M.A., Zaitseva N.V., Stepankov M.S. Peculiarities of toxic effects produced by aluminum oxide nano- and microparticles under multiple inhalation exposure. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(5): 502–508. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-5-502-508> <https://elibrary.ru/zhlqj> (In Russ.)

**For correspondence:** Marina A. Zemlyanova, MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Department of Biochemical and Cytogenetic Diagnostics of the Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, 614045, Russian Federation. E-mail: zem@fcrisk.ru

**Contribution:** Zemlyanova M.A. – the study concept and design, data analysis, writing; Zaitseva N.V. – the study concept and design, statistical data analysis, editing; Stepankov M.S. – data collection and analysis. All the authors have approved the final variant of the article and bear full responsibility for its integrity.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The research was granted financial support from the federal budget.

Received: March 31, 2023 / Accepted: May 31, 2023 / Published: June 20, 2023

### Введение

В настоящее время наблюдается активное внедрение наноматериалов и нанотехнологий в различные производственные процессы и сферы хозяйственной деятельности. Прогнозируется, что данная тенденция сохранится: к 2029 г. мировой рынок наноматериалов будет оцениваться в 38,17 млрд долларов США, что в 3,69 раза больше, чем в 2020 г. (10,34 млрд долларов США) [1]. Аналогичная ситуация ожидается и на мировом рынке нанотехнологий: предполагается увеличение в 2,27 раза к 2026 г. (до 131 млрд долларов США против 57,7 млрд в 2020 г.) [2]. Ожидание роста рынков связано с расширяющимся спектром продукции, содержащей в своём составе наноразмерные частицы и (или) производимой с применением нанотехнологий на основе металлоксидных соединений, к числу которых от-

носятся оксиды алюминия. Наночастицы оксида алюминия ( $Al_2O_3$ ) имеют широкое практическое применение в сферах экономической деятельности, связанных с химической (производство катализаторов и их носителей) [3], пищевой (компонент эмульгаторов, консервантов, противослёживающих добавок, красителей, пекарских порошков, соевых смесей, упаковок) [4], медицинской (в составе ортопедических и зубных имплантатов, систем доставки лекарств, биосенсоров) [5–7], парфюмерно-косметической (компонент колорирующих агентов и пигментов, упаковок) [8] отраслями промышленности.

Высокая востребованность  $Al_2O_3$  в условиях масштабного развития nanoиндустрии может обуславливать загрязнение атмосферного воздуха, формирующее риски для здоровья населения в условиях длительной аэрогенной экспозиции [9]. В научной литературе имеется информация

о молекулярно-биологических, цитологических, токсикологических эффектах воздействия НЧ  $Al_2O_3$  на клетки животных и человека [10]. По результатам исследований *in vitro* и *in vivo* установлена способность данного наноматериала генерировать активные формы кислорода [11, 12], подавлять синтез мРНК и функциональную активность митохондрий, изменять экспрессию белков и кодирующих их генов [13], что нарушает метаболические процессы, вызывает гибель и пролиферацию клеток [10], приводит к морфофункциональным нарушениям тканей органов [14, 15]. Интегральная оценка результатов прогнозно-аналитического моделирования по комплексу критериев признаков, выполненная ранее в исследованиях [16] согласно МР 1.2.2522–09<sup>1</sup>, свидетельствует о высокой степени потенциальной опасности для здоровья человека наночастиц оксида алюминия. В связи с этим актуальным является детальное исследование и выделение патогенетических особенностей токсического действия НЧ  $Al_2O_3$  на основе сравнительного анализа с микроразмерным химическим аналогом при многократной ингаляционной экспозиции для повышения эффективности мер профилактики.

**Цель работы** – исследование и характеристика патогенетических особенностей токсического действия НЧ  $Al_2O_3$  в сравнении с микродисперсным химическим аналогом при многократной ингаляционной экспозиции.

## Материалы и методы

В экспериментах использовали порошок нано- и микродисперсного  $Al_2O_3$  (CAS 1344–28–1, номера продукта 718475 и 265497 соответственно) коммерческого производителя Sigma-Aldrich (США). Физические параметры частиц в составе порошков (размер, форма, сферичность) оценивали методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-63090LV (JEOL, Япония) с программным обеспечением ImageJ-Fiji в модуле Analyze Particles. Расчёт удельной площади поверхности частиц в соответствии с методикой Брунауэра, Эммета и Теллера (БЭТ) [17] и определение суммарного объёма пор согласно методу Баррета, Джайнера и Халенды (БДХ) выполнены на анализаторе ASAP 2020 (Micromeritics, США) [18].

Экспериментальные исследования проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях (ETS № 123), и комитета по этике ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (протокол № 5 от 20.01.2021 г.). Токсикологическое исследование тестируемых материалов выполнено на 30 самках крыс линии Wistar средней массой  $265 \pm 11,82$  г. Экспериментальные крысы содержались в виварном помещении, соответствующем требованиям СанПиН 3.3686–21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Согласно ETS № 123, крысы содержались в полиэтиленовых клетках, температуру помещения поддерживали в диапазоне плюс 22–24 °С, относительную влажность воздуха – в пределах 44–50%, цикл «день – ночь» составлял 12 и 12 ч соответственно. Крысы имели свободный доступ к пище и чистой воде за исключением времени проведения экспозиции.

Крыс, прошедших двухнедельный карантин, случайным образом разделили на три группы по десять особей в каждой. Опытная группа подвергалась экспозиции НЧ  $Al_2O_3$ , группа сравнения – экспозиции МЧ  $Al_2O_3$ , контрольная группа содержалась без воздействия тестируемых веществ.

<sup>1</sup> Методические рекомендации МР 1.2.2522–09 «Методические рекомендации по выявлению наноматериалов, представляющих потенциальную опасность для здоровья человека» (утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 01 июля 2009 г.). [Электронный ресурс]. <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/4088803/> (ссылка активна по состоянию на 03.03.2023 г.).

Многократную ингаляционную экспозицию моделировали в соответствии с ГОСТ 32383–2013<sup>2</sup>. Для генерирования аэрозолей использовали водные суспензии НЧ и МЧ  $Al_2O_3$  в концентрации 125 мг/см<sup>3</sup>, обеспечивающей фактическую концентрацию веществ в камере, рекомендуемую для многократной экспозиции (~ 0,0001 от КЛ<sub>50</sub> (КЛ<sub>50</sub> для НЧ и МЧ  $Al_2O_3$  > 5000 мг/м<sup>3</sup>). Суспензии веществ готовили на основе бидистиллированной воды. Равномерное распределение частиц в объёме суспензий обеспечивали воздействием ультразвука с помощью гомогенизатора Sonopuls Hd (Bandelin, Германия). Полученные суспензии подавали в ингаляционную систему с камерой для экспозиции всего тела (TSE Systems GmbH, Германия) со скоростью 0,4 см<sup>3</sup>/мин. Внутри камеры на протяжении эксперимента входящий и выходящий воздушные потоки поддерживали постоянными на скорости 10 дм<sup>3</sup>/мин. Экспозиции осуществляли в течение 10 сут по 4 ч в сутки. Для определения фактической концентрации тестируемых материалов в камере на протяжении всего времени экспозиций отбирали пробы воздуха со скоростью 2 дм<sup>3</sup>/мин на фильтр АФА-ХП-10-1. Фильтры подвергали термическому озонлению в муфельной печи до получения негорячего остатка, который растворяли азотной кислотой. Полученный раствор анализировали методом атомно-абсорбционной спектроскопии на спектрофотометре AAnalyst 400 (Perkin Elmer, США).

Перед началом первой и по окончании последней экспозиции проводили исследование и оценку основной активности и поведенческих реакций экспериментальных животных. Исследование выполнено на установке «Открытое поле» TS0501, (ООО «НПК Открытая Наука», Россия), предназначенной для изучения поведенческих реакций грызунов в новых (стрессогенных) условиях. Установка «Открытое поле» представляет собой круглую арену из белого неламинированного вспененного поливинилхлорида диаметром 97 см и высотой стенок 42 см. Пол арены разделён неглубокими узкими желобами на сектора, имеет отверстия диаметром 1,5 см. Оценку основной активности и поведенческих реакций проводили в затемнённом звукоизолированном помещении при неярком свете красной лампы мощностью 40 Вт, расположенной над ареной на высоте 2 м. Изменение поведенческих реакций фиксировали с помощью видеосистемы «Открытая арена» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) с камерой высокого разрешения, закреплённой на высоте 2 м при помощи настенного штатива. Видеозапись осуществляли в течение 2 мин. В начале эксперимента каждое животное из каждой группы индивидуально помещали в центр установки. По окончании видеорегистрации активности животного пол установки обрабатывали спиртовыми салфетками, следующее животное помещали на арену через 20 мин. Для учёта данных использовали программу RealTimer v.1.2.1, расчёт основной активности осуществляли суммированием количества пересечённых секторов и стоек с опорой и без опоры на стенку арены. При исследовании поведенческих реакций учитывали число актов дефекации, обнюхивания отверстий, продолжительности груминга и замирания.

По окончании последней экспозиции у крыс из подязычной вены отбирали кровь в объёме 3 см<sup>3</sup> для определения с помощью анализатора Keylab (BPC BioSed, Италия) биохимических показателей: глутаминовой кислоты, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), малонового диальдегида (МДА), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), гамма-глутамилтранспептидазы (γ-ГТ), амилазы,

<sup>2</sup> ГОСТ 32383–2013. Межгосударственный стандарт. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Изучение хронической токсичности при ингаляционном поступлении. Methods for testing of chemicals of human hazard. Chronic inhalation toxicity studies. [Электронный ресурс]. <https://docs.cntd.ru/document/1200110802> (ссылка активна по состоянию на 03.03.2023 г.).

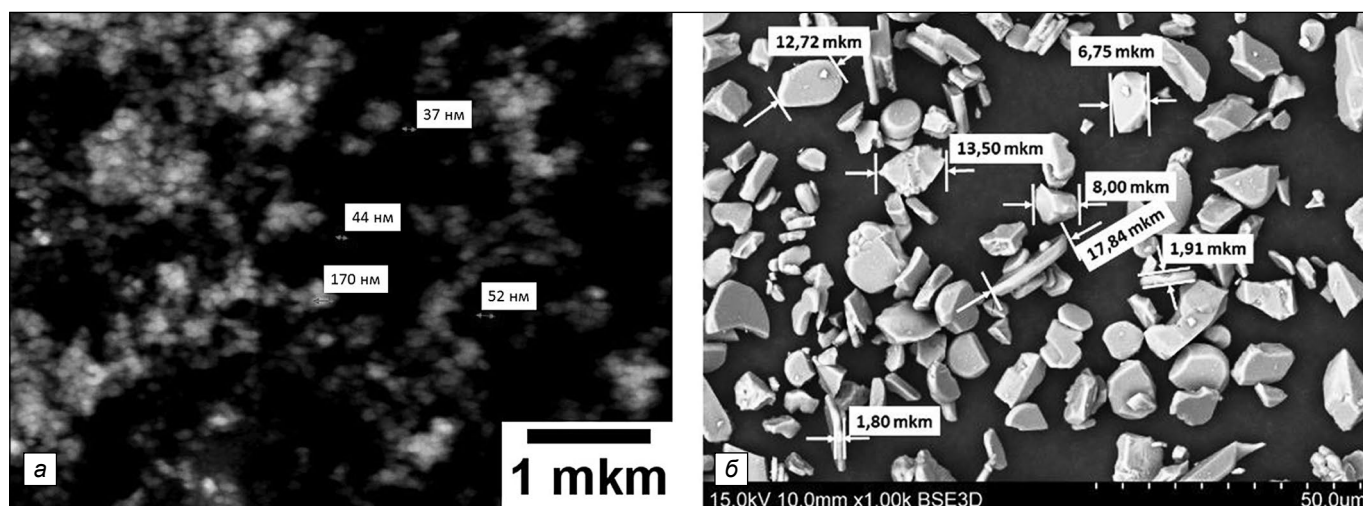


Рис. 1. Изображение методом РЭМ наночастиц (а) и микрочастиц  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (б).

Fig. 1. Image by SEM of nanoparticles (a) and microparticles  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (b).

лактатдегидрогеназы (ЛДГ), билирубина общего и прямого, креатинина, мочевины. После этого крыс подвергали эвтаназии методом цервикальной дислокации с последующей немедленной декапитацией. Выполняли отбор органов (сердца, лёгких, печени, почек и головного мозга) для гистологических исследований и оценки бионакопления тестируемых веществ в тканях. Содержание НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в органах и крови оценивали по концентрации алюминия, установленной методом атомно-абсорбционной спектрометрии. Пробоподготовку осуществляли аналогично подготовке фильтров описанным выше способом. Патоморфологические изменения в структуре тканей отобранных органов изучали на основании анализа гистологических микропрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, методом световой микроскопии с помощью светооптического микроскопа Axio Lab A1 (Carl Zeiss, Германия). Микрофотографии выполнены камерой Mikroskopkamera AxioCam ERc 5s (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку результатов исследования выполняли по расчёту  $U$ -критерия Манна – Уитни при уровне значимости  $p \leq 0,05$  в программе Statistica 10.

## Результаты

Методом РЭМ установлено, что тестируемый порошок  $\text{Al}_2\text{O}_3$  на 74,1% состоит из наночастиц додекаэдрической или октаэдрической формы до 100 нм. Максимальный пик распределения частиц приходится на диапазон 35–45 нм со среднепоперечным размером  $40,48 \pm 11,24$  нм (42,18% от общего количества частиц) (рис. 1, а), что в 1118 раз меньше размера частиц микродисперсного аналога преимущественно призматической формы, близкой к параллелепипеду. Диапазон размеров МЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  составляет 0,15–15 мкм с максимальным пиком распределения частиц в пределах 3–6 мкм (в среднем  $45,25 \pm 10,45$  мкм). Удельная площадь поверхности НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  равна 113,8, что в 161 раз больше, чем у микродисперсного аналога ( $0,7 \text{ м}^2/\text{г}$ ). Суммарный объём пор, находящихся на поверхности наночастиц, составляет 0,379, что в 379 раз больше данного показателя у микрочастиц ( $0,001 \text{ см}^3/\text{г}$ ) (рис. 1, б).

Во время экспозиций средняя концентрация НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  в ингаляционной камере установлена на уровне  $1,70 \pm 0,22 \text{ мг}/\text{м}^3$ , МЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  – на уровне  $1,73 \pm 0,31 \text{ мг}/\text{м}^3$ . Гибели крыс в период экспозиции не наблюдалось.

По результатам исследования основной активности и поведенческих реакций статистически значимых различий между экспериментальными группами перед началом экс-

позиционного периода не было. После проведения экспозиций у животных, подвергавшихся воздействию НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , относительно контроля зафиксировано снижение основной активности в 1,5 раза ( $p = 0,001$ ) и актов обнюхивания отверстий в 4,89 раза ( $p = 0,0004$ ), а время, затрачиваемое на груминг, увеличилось в 1,79 раза ( $p = 0,038$ ). При экспозиции микродисперсным химическим аналогом крысы обнюхивают меньше отверстий в 1,74 раза ( $p = 0,004$ ) в сравнении с контролем. Изменения поведенческих реакций крыс опытной группы отличаются от группы сравнения и состоят в более низкой основной активности (в 1,27 раза;  $p = 0,0004$ ) и меньшем количестве обнюханных отверстий (в 2,8 раза;  $p = 0,0001$ ), большей продолжительности груминга (в 1,81 раза;  $p = 0,013$ ) и замирания ( $p = 0,009$ ). При сравнении значений изучаемых показателей до и после проведения экспозиций у крыс, экспонированных НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , основная активность снижается в 1,86 раза ( $p = 0,001$ ), количество обнюханных отверстий – в 1,82 раза ( $p = 0,043$ ), увеличивается продолжительность груминга, замирания и количество актов дефекации в 1,79 ( $p = 0,04$ ), 1,51 ( $p = 0,008$ ) и 1,6 раза ( $p = 0,029$ ) соответственно. В группе, экспонированной МЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , снижается основная активность в 1,57 раза ( $p = 0,001$ ). Изменения внутри контрольной группы характеризуются снижением основной активности в 1,23 раза ( $p = 0,018$ ) и увеличением количества обнюханных отверстий в 1,94 раза ( $p = 0,049$ ). Результаты исследования основной активности и поведенческих реакций экспериментальных животных представлены в табл. 1.

При исследовании сыворотки крови экспериментальных животных зарегистрированы отклонения ряда биохимических показателей после многократного ингаляционного воздействия тестируемых веществ. Результаты исследования биохимических показателей крови крыс представлены в табл. 2.

При экспозиции НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  установлено увеличение относительно контроля активности АЛТ (в 2,29 раза;  $p = 0,002$ ), АСТ (в 3,11 раза;  $p = 0,002$ ), ЩФ (в 1,27 раза;  $p = 0,041$ ), ЛДГ (в 1,81 раза;  $p = 0,0002$ ), концентраций билирубина прямого (в 1,36 раза;  $p = 0,002$ ), ГАМК (в 1,86 раза;  $p = 0,005$ ) и МДА (в 1,83 раза;  $p = 0,005$ ). Наблюдалось уменьшение концентрации глутаминовой кислоты (в 1,81 раза;  $p = 0,005$ ). При экспозиции МЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$  установлено увеличение относительно контроля активности ЛДГ (в 1,75 раза;  $p = 0,014$ ), концентрации билирубина прямого (в 1,84 раза;  $p = 0,006$ ) и уменьшение концентрации глутаминовой кислоты (в 1,22 раза;  $p = 0,013$ ). Биохимические показатели у крыс опытной группы, экспонированной НЧ  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , в отличие от группы,

Таблица 1 / Table 1

**Основная активность и поведенческие реакции крыс ( $p \leq 0,05$ ),  $M \pm SD$**   
**Main activity and behavioural responses in rats ( $p \leq 0.05$ ),  $M \pm SD$**

Параметр Parameter	День 1 / Day 1			День 10 / Day 10		
	Опытная группа (НЧ $Al_2O_3$ ) Experimental group $Al_2O_3$ Nanoparticles (NP)	Группа сравнения, (МЧ $Al_2O_3$ ) Comparison group $Al_2O_3$ Microparticles (MP)	Контрольная группа Control group	Опытная группа (НЧ $Al_2O_3$ ) Experimental group $Al_2O_3$ NP	Группа сравнения, (МЧ $Al_2O_3$ ) Comparison group $Al_2O_3$ MP	Контрольная группа Control group
Основная активность Main activity	66.00 ± 4.01	70.67 ± 4.53	65.44 ± 3.41	35.40 ± 1.50* <sup>^</sup>	45.00 ± 1.27 <sup>•</sup>	53.00 ± 3.15 <sup>•</sup>
Продолжительность груминга, с Grooming duration, s	2.43 ± 0.08	2.58 ± 0.10	2.47 ± 0.83	4.34 ± 0.56* <sup>^</sup>	2.40 ± 0.13	2.42 ± 0.49
Продолжительность замирания, с Freeze duration, s	3.27 ± 0.18	3.20 ± 0.66	3.02 ± 1.00	4.94 ± 0.43 <sup>^</sup>	3.27 ± 0.35	3.47 ± 0.71
Актов дефекации, ед. Acts of defecation, units	1.25 ± 0.25	1.67 ± 0.33	1.40 ± 0.24	2.00 ± 0.30 <sup>•</sup>	2.00 ± 0.17	1.88 ± 0.20
Актов обнюхивания отверстий, ед. Acts of sniffing holes, units	4.00 ± 0.97	5.67 ± 1.05	5.56 ± 1.71	2.20 ± 0.39* <sup>^</sup>	6.17 ± 0.53 <sup>•</sup>	10.75 ± 1.18 <sup>•</sup>

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: \* – статистически значимое отличие от контроля; <sup>^</sup> – статистически значимое отличие от группы сравнения; <sup>•</sup> – статистически значимое отличие от показателей до экспозиции.  
 Note: \* – significant difference with control group; <sup>^</sup> – with comparison group; <sup>•</sup> – with parameters before exposition.

Таблица 2 / Table 2

**Биохимические показатели крови крыс ( $p \leq 0,05$ ),  $M \pm SD$**   
**Biochemical parameters of the rat blood ( $p \leq 0.05$ ),  $M \pm SD$**

Параметр Parameters	Опытная группа (НЧ $Al_2O_3$ ) Experimental group $Al_2O_3$ NPs	Группа сравнения, (МЧ $Al_2O_3$ ) Comparison group $Al_2O_3$ MPs	Контрольная группа Control group
ГАМК, мкмоль/дм <sup>3</sup> (GABA, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ )	2.57 ± 0.21* <sup>^</sup>	1.57 ± 0.09	1.38 ± 0.05
Глутаминовая кислота, мкмоль/дм <sup>3</sup> Glutamate, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ )	101.41 ± 4.59* <sup>^</sup>	150.11 ± 7,04*	183.38 ± 3.86
МДА, мкмоль/см <sup>3</sup> (MDA, $\mu\text{mol}/\text{cm}^3$ )	4.58 ± 0.32* <sup>^</sup>	2.78 ± 0.08	2.50 ± 0.06
АЛТ, Е/дм <sup>3</sup> (ALT, U/dm <sup>3</sup> )	144.00 ± 36.83* <sup>^</sup>	51.67 ± 2.29	62.91 ± 6.76
АСТ, Е/дм <sup>3</sup> (AST, U/dm <sup>3</sup> )	799.00 ± 232.19* <sup>^</sup>	224.17 ± 18.73	257.18 ± 24.24
ЩФ, Е/дм <sup>3</sup> (ALP, U/dm <sup>3</sup> )	438.40 ± 104.68* <sup>^</sup>	284.67 ± 30.14	343.91 ± 38.25
$\gamma$ -ГТ, Е/дм <sup>3</sup> (GGT, U/dm <sup>3</sup> )	1.60 ± 0.37	1.33 ± 0.21	1.44 ± 0.25
Амилаза, Е/дм <sup>3</sup> (Amylase, U/dm <sup>3</sup> )	1062.00 ± 228.82	1027.00 ± 62.24	1045.00 ± 62.77
Билирубин общий, мкмоль/дм <sup>3</sup> (Total bilirubin, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ )	1.96 ± 0.34	1.63 ± 0.13	1.87 ± 0.18
Билирубин прямой, мкмоль/дм <sup>3</sup> (Direct bilirubin, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ )	0.86 ± 0.18*	1.17 ± 0.12*	0.63 ± 0.03
Креатинин, мкмоль/дм <sup>3</sup> (Creatinine, $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ )	64.40 ± 15.19	81.67 ± 5.60	74.09 ± 6.08
ЛДГ, Е/дм <sup>3</sup> (LDH, U/dm <sup>3</sup> )	1790.60 ± 305.02*	1730.67 ± 231.14*	987.46 ± 76.88
Мочевина, ммоль/дм <sup>3</sup> (Urea, mmol/dm <sup>3</sup> )	3.34 ± 0.70	3.17 ± 0.26	3.76 ± 0.20

Таблица 3 / Table 3

**Концентрация алюминия в органах и крови крыс ( $p \leq 0,05$ ),  $M \pm SD$ , мкг/г**  
**Concentration of aluminum in the rats organs and blood ( $p \leq 0.05$ ),  $M \pm SD$ ,  $\mu\text{g}/\text{g}$**

Орган Organ	Контрольная группа Control group	Опытная группа (НЧ $Al_2O_3$ ) Experimental group ( $Al_2O_3$ NPs)	Группа сравнения (МЧ $Al_2O_3$ ) Comparison group ( $Al_2O_3$ MPs)
Сердце / Heart	6.84 ± 1.36	7.46 ± 0.44	6.87 ± 0.24
Лёгкие / Lungs	0.41 ± 0.10	22.63 ± 0.15* <sup>^</sup>	2.96 ± 0.20*
Печень / Liver	0.04 ± 0.01	1.52 ± 0.02* <sup>^</sup>	0.80 ± 0.06*
Почки / Kidneys	0.40 ± 0.11	0.34 ± 0.03	0.43 ± 0.05
Мозг / Brain	0.08 ± 0.01	0.45 ± 0.05* <sup>^</sup>	0.18 ± 0.05*
Кровь / Blood	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.004* <sup>^</sup>	0.04 ± 0.003

экспонированной МЧ  $Al_2O_3$ , характеризуются более высокими значениями активности АЛТ (в 2,79 раза;  $p = 0,008$ ), АСТ (в 3,56 раза;  $p = 0,008$ ), ЩФ (в 1,54 раза;  $p = 0,022$ ), концентраций ГАМК (в 1,64 раза;  $p = 0,007$ ) и МДА (в 1,65 раза;  $p = 0,005$ ) и более низкой концентрацией глутаминовой кислоты (в 1,48 раза;  $p = 0,005$ ).

Результаты исследования концентрации алюминия при экспозиции НЧ  $Al_2O_3$  показали увеличение относительно контроля содержания изучаемого химического элемента в лёгких (в 55,2 раза;  $p = 0,016$ ), головном мозге (в 5,96 раза;  $p = 0,02$ ), печени (в 34,55 раза;  $p = 0,028$ ) и крови (в 1,62 раза;  $p = 0,005$ ). Увеличение концентрации алюминия у крыс, экспонированных МЧ  $Al_2O_3$ , относительно контроля отмечено в лёгких (в 7,22 раза;  $p = 0,007$ ), печени (в 18,24 раза;  $p = 0,014$ ) и головном мозге (в 2,25 раза;  $p = 0,014$ ). Изучаемый показатель при воздействии НЧ  $Al_2O_3$  выше в сравнении с действием микро-размерного химического аналога в лёгких (в 7,65 раза;  $p = 0,014$ ), печени (в 1,89 раза;  $p = 0,014$ ), головном мозге (в 2,5 раза;  $p = 0,007$ ) и крови (в 1,55 раза;  $p = 0,008$ ). Результаты исследования концентраций веществ в органах и крови крыс представлены в табл. 3.

При гистологическом исследовании установлены патоморфологические изменения тканей органов крыс, экспонированных НЧ  $Al_2O_3$ , не наблюдавшиеся в контрольной группе. В головном мозге идентифицировано субарахноидальное кровоизлияние, в лёгких – гиперплазия лимфоидной ткани, эозинофилия инфильтрата и геморрагические инфаркты, в сердце и печени – острое полнокровие. В почках изменений структуры тканей не выявлено. При воздействии МЧ  $Al_2O_3$  в лёгких зафиксированы гиперплазия лимфоидной ткани и эозинофилия инфильтрата, нарушенный морфологии тканей сердца, печени, почек и головного мозга не обнаружено. Микрофотографии, полученные по результатам гистологического исследования, представлены на рис. 2 (см. на вклейке).

## Обсуждение

Результаты исследования физических параметров частиц тестируемого порошка  $Al_2O_3$  подтвердили его принадлежность к наноматериалам. Особые физические свойства, такие как малый размер и высокая удельная площадь поверхности, позволяют НЧ более эффективно проникать через защитные барьеры организма и вызывать морфофункциональные изменения на клеточно-молекулярном и органо-тканевом уровнях относительно микро-частиц [19].

Органами бионакопления частиц алюминия при экспозиции НЧ  $Al_2O_3$  в концентрации  $1,7 \pm 0,22$  мг/м<sup>3</sup> являются лёгкие, головной мозг и печень. При практически аналогичной экспозиции МЧ  $Al_2O_3$  (в концентрации  $1,73 \pm 0,31$  мг/м<sup>3</sup>) алюминий депонируется в лёгких, печени и головном мозге. Повышенные относительно контроля концентрации алюминия в крови указывают на возможность НЧ  $Al_2O_3$  преодолевать аэрогематический барьер и поступать к другим органам из лёгких через кровеносное русло. Депонирование тестируемых НЧ в головном мозге указывает на их способность проникать через гематоэнцефалический барьер. Данное предположение подтверждается исследованием [20], в котором в результате экспериментального моделирования *in vitro* и *in vivo* установлена способность НЧ  $Al_2O_3$  подавлять экспрессию белков плотных контактов, фрагментировать молекулы клаудина-5 и окклюдина, что указывало на нарушение структуры гематоэнцефалического барьера. Кроме того, НЧ  $Al_2O_3$  при интраназальном поступлении способны проникать в головной мозг через обонятельный нерв [21]. Следует отметить, что НЧ  $Al_2O_3$  накапливаются в значительно больших количествах в лёгких, печени и головном мозге, чем микрочастицы химического аналога, что подтверждает более высокую степень их бионакопления.

В тканях лёгких крыс, экспонированных НЧ и МЧ  $Al_2O_3$ , зафиксированы начальные проявления воспаления в виде эозинофилии инфильтрата. Воспалительные изменения тканей лёгких могут быть результатом окислительного стресса [22, 23], вызванного увеличением генерации свободных радикалов при воздействии тестируемого наноматериала [24]. Гиперплазия лимфоидной ткани, установленная в лёгких экспонированных крыс, характерна для развития воспалений [25]. Геморрагический инфаркт лёгких, развивающийся у крыс при воздействии НЧ  $Al_2O_3$ , указывает на нарушение циркуляции крови, вызванное, вероятно, снижением проходимости сосудов [26]. На нарушение тока крови также указывают субарахноидальное кровоизлияние в головном мозге, острое полнокровие сердца и печени, установленные у крыс при экспозиции НЧ  $Al_2O_3$ . Экссудация крови в субарахноидальное пространство вызывает нарушения центральной нервной системы [27, 28]. Ранние последствия этих нарушений проявляются в течение 72 ч после субарахноидального кровоизлияния в виде изменения внутричерепного и церебрального перфузионного давления, ионных изменений, приводящих к деполаризации ткани коры, нарушения гомеостаза кальция в сосудах и повышения активности внеклеточного глутамата [29, 30]. В дальнейшем, в период от 3 до 14 сут после субарахноидального кровоизлияния, развивается отсроченная церебральная ишемия, вызванная вазоспазмом и (или) инфарктом головного мозга [31, 32]. Клинические исследования подтверждают развитие когнитивных нарушений, изменение личности и депрессию у пациентов после субарахноидального кровоизлияния [33, 34]. В исследованиях на крысах подтверждено изменение поведенческих реакций экспериментальных животных при экспозиции НЧ  $Al_2O_3$ . Нарушение поведенческих реакций сопровождалось увеличением активности малонового диальдегида, снижением активности супероксиддисмутазы и ацетилхолинэстеразы, что указывало на развитие окислительного стресса в тканях головного мозга [35, 36]. По результатам собственных экспериментальных исследований у крыс, экспонированных НЧ  $Al_2O_3$ , снижается основная активность, увеличивается время, затрачиваемое на груминг и замирание, что может являться проявлением стрессовой реакции, инициированной субарахноидальным кровоизлиянием [37]. В целом патологические изменения структуры тканей органов при многократной ингаляционной экспозиции НЧ  $Al_2O_3$  более выражены в сравнении с действием микро-размерного химического аналога.

Патоморфологические нарушения тканей органов крыс верифицируются изменением таких биохимических показателей, как АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ и билирубин прямой. Данные изменения характерны для нарушения функций печени [38]. Кроме того, повышение активности ЛДГ может быть вызвано повреждением клеток лёгких [38]. Увеличение концентрации ГАМК с одновременным снижением концентрации глутаминовой кислоты свидетельствует о дисбалансе нейромедиаторов и торможении передачи импульсов по нервной ткани. НЧ  $Al_2O_3$  вызывают более выраженные патофункциональные изменения в сравнении с МЧ.

## Заключение

Результаты проведённого исследования свидетельствуют о большей токсичности НЧ  $Al_2O_3$  по сравнению с микро-размерным химическим аналогом. Это подтверждается более выраженными изменениями основной активности и поведенческих реакций, большим числом органов бионакопления, значительно выраженными патоморфологическими и патофункциональными нарушениями.

Полученные результаты необходимо учитывать при разработке гигиенических рекомендаций, направленных на предупреждение и минимизацию негативных эффектов НЧ  $Al_2O_3$  на здоровье человека.

## Литература

(п.п. 1–15, 18–37 см. References)

16. Зайцева Н.В., Землянова М.А., Степанков М.С., Игнатова А.М. Оценка токсичности и потенциальной опасности наночастиц оксида алюминия для здоровья человека. *Экология человека*. 2018; (5): 9–15. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-5-9-15> <https://elibrary.ru/xnzkvz>
17. Грег С., Синг К. *Адсорбция, удельная поверхность, пористость*. М.: Мир; 1984.
18. Назаренко Г.И., Кшкун А.А. *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований*. М.: Медицина; 2006.
19. Zhang N., Xiong G., Liu Z. Toxicity of metal-based nanoparticles: Challenges in the nano era. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022; 10: 1001572. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.1001572>
20. 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; 3(4): 286–95. <https://doi.org/10.1007/s11481-008-9131-5>
21. Liu H., Zhang W., Fang Y., Yang H., Tian L., Li K., et al. Neurotoxicity of aluminum oxide nanoparticles and their mechanistic role in dopaminergic neuron injury involving p53-related pathways. *J. Hazard. Mater.* 2020; 392: 122312. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122312>
22. Pham-Huy L.A., He H., Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.* 2008; 4(2): 89–96.
23. Phaniendra A., Jestadi D.B., Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem.* 2015; 30(1): 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
24. Arul Prakash F., Dushendra Babu G.J., Lavanya M. Toxicity studies of aluminium oxide nanoparticles in cell lines. *Int. J. Nanotechnol. Appl.* 2011; 5(2): 99–107.
25. Sirajuddin A., Raparia K., Lewis V.A., Franks T.J., Dhand S., Galvin J.R., et al. Primary Pulmonary Lymphoid Lesions: Radiologic and Pathologic Findings. *Radiographics.* 2016; 36(1): 53–70. <https://doi.org/10.1148/rq.2016140339>
26. Kaptein F.H.J., Kroft L.J.M., Hammerschlag G., Ninaber M.K., Bauer M.P., Huisman M.V., et al. Pulmonary infarction in acute pulmonary embolism. *Thromb. Res.* 2021; 202: 162–9. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2021.03.022>
27. Al-Mufti F., Amuluru K., Smith B., Damodara N., El-Ghanem M., Singh I.P., et al. Emerging markers of early brain injury and delayed cerebral ischemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *World Neurosurg.* 2017; 107: 148–59. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.07.114>
28. Suarez J.I., Tarr R.W., Selman W.R. Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354(4): 387–96. <https://doi.org/10.1056/nejmra052732>
29. Sehba F.A., Hou J., Pluta R.M., Zhang J.H. The importance of early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Prog. Neurobiol.* 2012; 97(1): 14–37. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.003>
30. Fujii M., Yan J., Rolland W.B., Soejima Y., Caner B., Zhang J.H. Early brain injury, an evolving frontier in subarachnoid hemorrhage research. *Transl. Stroke Res.* 2013; 4(4): 432–46. <https://doi.org/10.1007/s12975-013-0257-2>
31. Ciurea A.V., Palade C., Voinescu D., Nica D.A. Subarachnoid hemorrhage and cerebral vasospasm – literature review. *J. Med. Life.* 2013; 6(2): 120–5.
32. Claassen J., Bernardini G.L., Kreiter K., Bates J., Du Y.E., Copeland D., et al. Effect of cisternal and ventricular blood on risk of delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage: the Fisher scale revisited. *Stroke.* 2001; 32(9): 2012–20. <https://doi.org/10.1161/hs0901.095677>
33. Tang W.K., Wang L., Tsoi K.K.F., Barrash J., Kim J.S. Personality changes after subarachnoid hemorrhage: A systematic review and meta-analysis. *J. Psychosom. Res.* 2022; 156: 110762. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2022.110762>
34. Tang W.K., Wang L., Kwok Chu Wong G., Ungvari G.S., Yasuno F., Tsoi K.K.F., et al. Depression after subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *J. Stroke.* 2020; 22(1): 11–28. <https://doi.org/10.5853/jos.2019.02103>
35. M'rad I., Jeljeli M., Rihane N., Hilber P., Sakly M., Amara S. Aluminium oxide nanoparticles compromise spatial learning and memory performance in rats. *EXCLI J.* 2018; 17: 200–10. <https://doi.org/10.17179/excli2017-1050>
36. M'rad I., Sakly M., Amara S. Aluminium oxide nanoparticles induced cognitive deficits and oxidative stress in frontal cortex and cerebellum of rat. *Adv. J. Toxicol. Curr. Res.* 2017; 1(1): 7–14.
37. Celis M.E., Torre E. Measurement of grooming behavior. *Methods Neurosci.* 1993; 14: 359–78.
38. Назаренко Г.И., Кшкун А.А. *Клиническая оценка результатов лабораторных исследований*. М.: Медицина; 2006. (in Russian)
1. GlobeNewswire. Research and Markets. Global nanomaterials market (2021 to 2029) – featuring BASF, Bayer and Chasm Technologies among others. Available at: <https://www.globenewswire.com/news-release/2021/05/18/2231307/28124/en/Global-Nanomaterials-Market-2021-to-2029-Featuring-BASF-Bayer-and-Chasm-Technologies-Among-Others.html>
2. Research and Markets. Nanotechnology market – size, share, COVID impact analysis and forecast to 2027; 2021. Available at: <https://www.researchandmarkets.com/reports/5308793/2021-nanotechnology-market-size-share-covid>
3. Piracha S., Saleem S. Nanoparticle: role in chemical industries, potential sources and chemical catalysis applications. *Sch. Int. J. Chem. Mat. Sci.* 2021; 4(4): 40–5. <https://doi.org/10.36348/sijcms.2021.v04i04.006>
4. Shafiq M., Anjum S., Hano C., Anjum I., Abbasi B.H. An overview of the applications of nanomaterials and nanodevices in the food industry. *Food.* 2020; 9(2): 148. <https://doi.org/10.3390/foods9020148>
5. Shafiq M., Luo X. Nanotechnology in transportation vehicles: an overview of its applications, environmental, health and safety concerns. *Materials (Basel).* 2019; 12(15): 2493. <https://doi.org/10.3390/ma12152493>
6. Salata O. Applications of nanoparticles in biology and medicine. *J. Nanobiotechnology.* 2004; 2(1): 3. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-2-3>
7. Liu X., Luo L., Ding Y., Xu Y. Amperometric biosensors based on alumina nanoparticles-chitosan-horseradish peroxidase nanobiocomposites for the determination of phenolic compounds. *Analyst.* 2011; 136(4): 696–701. <https://doi.org/10.1039/c0an00752h>
8. Robertson T.A., Sanchez W.Y., Roberts M.S. Are commercially available nanoparticles safe when applied to the skin? *J. Biomed. Nanotechnol.* 2010; 6(5): 452–68. <https://doi.org/10.1166/jbn.2010.1145>
9. Krewski D., Yokel R.A., Nieboer E., Borchelt D., Cohen J., Harry J., et al. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *J. Toxicol. Environ. Health B. Crit. Rev.* 2007; 10(Suppl. 1): 1–269. <https://doi.org/10.1080/10937400701597766>
10. Arul Prakash F., Dushendra Babu G.J., Lavanya M. Toxicity studies of aluminium oxide nanoparticles in cell lines. *Int. J. Nanotechnol. Appl.* 2011; 5(2): 99–107.
11. Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M. Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models. *Iran. Biomed. J.* 2016; 20(1): 1–11. <https://doi.org/10.7508/ibj.2016.01.001>
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; 3(4): 286–95. <https://doi.org/10.1007/s11481-008-9131-5>
13. El-Hussainy M.A., Hussein A.M., Abdel-Aziz A., El-Mehasseb I. Effects of aluminum oxide (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) nanoparticles on ECG, myocardial inflammatory cytokines, redox state, and connexin 43 and lipid profile in rats: possible cardioprotective effect of gallic acid. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2016; 94(8): 868–78. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0446>
14. Balasubramanyam A., Sailaja N., Mahboob M., Rahman M.F., Hussain S.M., Grover P. In vivo genotoxicity assessment of aluminium oxide nanomaterials in rat peripheral blood cells using the comet assay and micronucleus test. *Mutagenesis.* 2009; 24(3): 245–51. <https://doi.org/10.1093/mutage/geb003>
15. 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; 109(1): 152–67. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfp046>
16. Zaytseva N.V., Zemlyanova M.A., Stepankov M.S., Ignatova A.M. Scientific forecasting of toxicity and evaluation of hazard potential of aluminum oxide nanoparticles for human health. *Ekologiya cheloveka.* 2018; (5): 9–15. <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-5-9-15> <https://elibrary.ru/xnzkvz> (in Russian)
17. Gregg S., Sing K. *Adsorption, Surface Area and Porosity*. London: Academic Press Inc.; 1982. (in Russian)
18. Barrett E.P., Joyner L.G., Halenda P.P. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms. *J. Am. Chem. Soc.* 1951; 73: 373–80. <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>

## References

К статье М.А. Земляновой, Н.В. Зайцевой и соавт.  
To the article by Marina A. Zemlyanova, Nina V. Zaitseva et al.

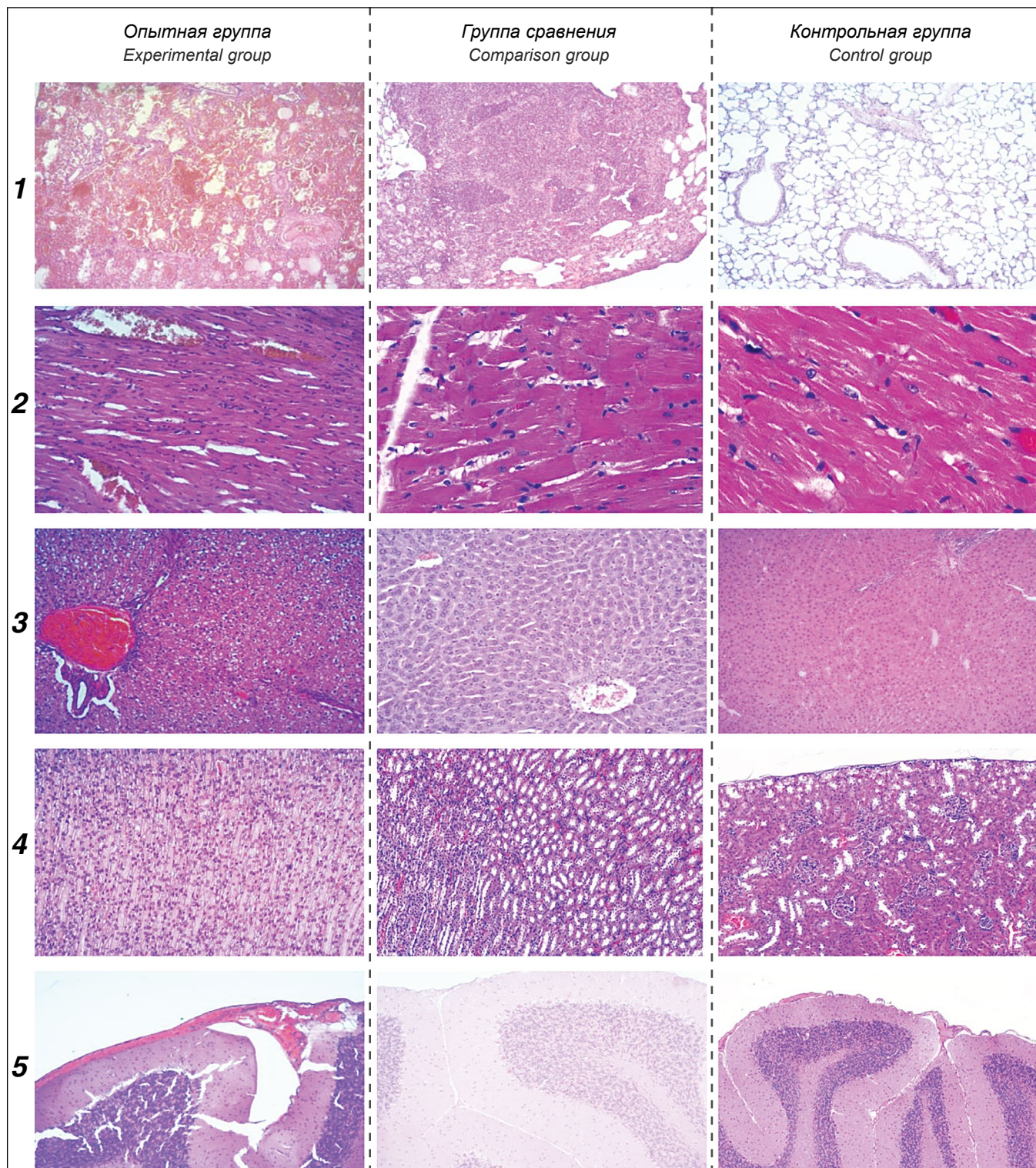


Рис. 2. Микрофотографии препаратов лёгких (1), сердца (2), печени (3), почек (4) и головного мозга (5) крыс в исследуемых группах. Окрашивание гематоксилин-эозином, увеличение  $\times 100$ .

Fig. 2. Micrographs of rat lungs (1), heart (2), liver (3), kidney (4) and brain (5) in the study groups. Stained with hematoxylin-eosin,  $\times 100$ .