

Койгельдинова Ш.С.¹, Ибраев С.А.¹, **Базелюк Л.Т.¹**, Касымова А.К.², Таласпаева А.Е.¹

Фагоцитоз альвеолярных макрофагов у экспериментальных животных при воздействии пыли хризотил-асбеста

¹НАО «Медицинский университет Караганды» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, 100008, Караганда, Республика Казахстан;²ГКП на ПХВ «Городская поликлиника № 3», Z10H5X8, Нур-Султан, Республика Казахстан

Введение. Как известно, воздействие пыли, в том числе и хризотил-асбеста, приводит к мобилизации альвеолярных макрофагов, сопровождающейся активацией свободнорадикального окисления и высвобождением медиаторов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез коллагена. **Материал и методы.** 30 беспородных крыс-самцов были разделены на 2 группы: 1-я – контроль со сроком 4 мес ($n = 15$), 2-я – опытная группа, подвергшаяся 4-месячной заправке пылью хризотил-асбеста ($n = 15$). Животным опытной группы однократно интратрахеально под эфирной анестезией в дыхательные пути с помощью шприца инсталлировали по 1 мл стерильного физиологического раствора, содержащего взвесь (50 мг) пыли хризотил-асбеста. Далее животных умерщвляли, получали бронхальные смывы, центрифугировали, из осадка делали мазки, которые в дальнейшем микроскопировали. Жировой обмен оценивали по содержанию фосфолипидов (ФЛ) в клетке по Г.А. Меркулову. Определение оксипролина проводилось в гомогенате лёгких. Для оценки статистических различий между двумя группами использовался t -критерий Стьюдента. Данные выражали в виде среднего значения $\pm SE$. Значения вероятности $p < 0,05$ считали значимыми.

Результаты. В экспериментальных условиях на животных установлено, что хроническое воздействие пыли хризотил-асбеста в течение 4 мес вызывает снижение активности фагоцитирующих клеток и повышение деструктивных форм альвеолярных макрофагов в бронхоальвеолярных смывах, избыточное накопление фосфолипидов и повышение оксипролина. Полученные результаты свидетельствуют о развитии пневмофиброза вследствие цитотоксического и мембраноповреждающего эффекта пыли хризотил-асбеста.

Заключение. Таким образом, пыль хризотил-асбеста Житикаринского месторождения, отнесённая к наночастицам и многокомпонентная по химическому составу, оказывает цитотоксическое воздействие, сопровождаемое активацией фагоцитарного звена лёгких и мембранно-деструктивными изменениями клеток с накоплением фосфолипидов.

Ключевые слова: хризотил-асбест; фагоцитоз; альвеолярные макрофаги; нейтрофилы; экспериментальные животные

Для цитирования: Койгельдинова Ш.С., Ибраев С.А., Базелюк Л.Т., Касымова А.К., Таласпаева А.Е. Фагоцитоз альвеолярных макрофагов у экспериментальных животных при воздействии пыли хризотил-асбеста. *Гигиена и санитария*. 2021; 100 (1): 73-76. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2021-100-1-73-76>

Для корреспонденции: Койгельдинова Шолпан Секербаевна, доктор мед. наук, профессор кафедры внутренних болезней № 2 НАО «Медицинский университет Караганды» Минздрава Республики Казахстан, 100008, Караганда, Республика Казахстан. E-mail: kshs@list.ru

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

Благодарность. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Участие авторов: Койгельдинова Ш.С. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование; Ибраев С.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Базелюк Л.Т. – сбор и обработка материала, статистическая обработка; Касымова А.К., Таласпаева А.Е. – написание текста. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Поступила 29.10.2019 / Принята к печати 18.09.2020 / Опубликована 12.02.2021

Sholpan S. Koygeldinova¹, Serik A. Ibrayev¹, **Lyudmila T. Bazeluk¹**, Aygul K. Kasymova², Aisulu Ye. Talaspayeva¹

Phagocytosis of alveolar macrophages in experimental animals exposed to chrysotil– asbestos dust

¹Karaganda Medical University, Karaganda, 100008, Republic of Kazakhstan;²City Polyclinic No. 3, Nur-Sultan, Z10H5X8, Republic of Kazakhstan

Introduction. The exposure to dust, including chrysotile asbestos, is known to lead to the mobilization of alveolar macrophages, accompanied by the activation of free radical oxidation and the release of mediators stimulating fibroblast proliferation and collagen synthesis.

Material and methods. Thirty outbred male rats were divided into two groups: 1 - control with a period of 4 months ($n = 15$), the 2-experienced group subjected to 4-month seed with chrysotile asbestos dust ($n = 15$). Under ether anesthesia, animals of the experimental group once were installed intratracheally in the respiratory tract using a syringe 1.0 ml of the sterile saline solution containing a suspension (50 mg) of chrysotile dust - asbestos. Then, the animals were killed, their bronchial washes, centrifuged, smears from the sediment, were subsequently visualized with a microscope. Fat metabolism was assessed by the content of phospholipids in the cell, according to G.A. Merkulov. Determination of hydroxyproline in the pulmonary homogenate. The statistical differences between the two groups were assessed with the Student's t -test. Data were expressed as mean $\pm SE$. Probability values of $p < 0.05$ were considered significant.

Results. The chronic exposure to chrysotile asbestos dust with a period of 4 months was found to causes a decrease in the activity of phagocytic cells and an increase in the destructive forms of alveolar macrophages in bronchoalveolar washes, excessive accumulation of phospholipids and an increase in oxyproline. Pneumofibrosis develops due to the cytotoxic and membrane-damaging effect of chrysotile asbestos dust.

Conclusion. Thus, chrysotile asbestos dust from the Zhitikarinsky site, attributed to nanoparticles and multicomponent in chemical composition, has a cytotoxic effect, accompanied by activation of phagocytic pulmonary membrane and membrane-destructive changes in cells with accumulation of phospholipids.

Keywords: chrysotile-asbestos; phagocytosis; alveolar macrophages; neutrophils; experimental animals

For citation: Koygeldinova Sh.S., Ibrayev S.A., Bazeluk L.T., Kasymova A.K., Talaspayeva A.Ye. Phagocytosis of alveolar macrophages in experimental animals exposed to chrosotil– asbestos dust. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 100 (1): 73-76. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-100-1-73-76> (In Russ.)

For correspondence: Sholpan S. Koygeldinova, MD, Ph.D., DSci., Acting professor in the Department of Internal Medicine propaedeutics, docent, Karaganda Medical University, Karaganda, 100008, Republic of Kazakhstan. E-mail: kshs@list.ru

Information about the authors:

Koygeldinova Sh.S., <https://orcid.org/0000-0002-9366-1136> Ibraev S.A., <https://orid.org/0000-0002-0569-078X>
Kasymova A.K., <https://orcid.org/0000-0002-4535-8861> Talaspaeva A.E., <https://orcid.org/0000-0001-5531-6123>

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

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

Contribution of the authors: *Koygeldinova Sh.S.* – the concept and design of the study, collection and processing of material, statistical processing, writing a text, editing. *Ibraev S.A.* – research concept and design, writing a text. *Bazeluk L.T.* – collection and processing of material, statistical processing. *Kasymova A.K.*, *Talaspaeva A.E.* – writing a text. *All co-authors* – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Received: October 29, 2019 / Accepted: September 18, 2020 / Published: February 12, 2021

Введение

Как известно, воздействие пыли, в том числе и хризотил-асбеста, приводит к мобилизации альвеолярных макрофагов, сопровождающейся активацией свободнорадикального окисления и высвобождением медиаторов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез коллагена [1–4]. Воздействие токсичных волокон хризотил-асбеста означает особый стресс для макрофагов и может привести к привлечению нейтрофильных гранулоцитов, что является решающим шагом, который приводит к неблагоприятному воспалительному ответу [5, 6].

Точные механизмы действия волокон на организм человека в настоящее время изучены не до конца. Долгое время при оценке любой асбестовой пыли учитывали только длинные тонкие волокна [7]. Такой подход связан главным образом с упрощённым представлением о механизме действия длинных частиц асбеста, которые не могут быть удалены и задерживаются в бронхиолах. Однако развитие асбестоза возможно и при воздействии коротких волокон [8].

В ранее опубликованной работе было показано, что величина наружного диаметра волокон хризотила Джетыгаринского месторождения хризотил-асбеста АО «Костанайские минералы» находится в пределах от 94 до 167 нм, что, на наш взгляд, позволяет отнести исследуемую пыль к нановолокнам [9]. В литературе нет чётких данных о респирабельности волокон менее 1000 нм. Известно, что в соответствии с международным соглашением под понятием «волокно» подразумевают частицы, длина которых более 5000 нм, а отношение длины (L) к диаметру (d) составляет $L/d > 3000$ нм [10]. При этом волокна диаметром менее 3000 нм считаются респирабельными.

Учитывая неоднозначность взглядов на развитие пневмофиброза при воздействии пыли хризотил-асбеста, остаётся актуальным изучение вопросов патогенеза с позиции оценки активности процессов макрофагального звена. При этом исследование клеточного состава лаважной жидкости, состоящей из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов и других клеток, позволяет судить о динамике и активности воспалительного процесса в лёгких.

Цель исследования – изучить фагоцитоз альвеолярных макрофагов и нейтрофилов у экспериментальных животных при 4-месячной затравке пылью хризотил-асбеста.

Материал и методы

30 беспородных крыс-самцов массой тела 200–220 г были разделены на 2 группы: 1-я – контроль со сроком 4 мес ($n = 15$), 2-я – опытная группа, подвергшаяся 4-месячной затравке пылью хризотил-асбеста ($n = 15$).

Животным опытной группы однократно интратрахеально под эфирной анестезией в дыхательные пути с помощью шприца инсталлировали по 1 мл стерильного физиологического раствора, содержащего взвесь (50 мг) пыли хризотил-асбеста.

Химический состав пыли хризотил-асбеста был представлен следующим химическим составом: двуокись кремния – 39,2%, двуокись магния – 41%, окись трёхвалентного железа – 8,5%, окись трёхвалентного алюминия – 0,9%, двуокись кальция – 0,2%, оксид натрия – 0,3%, хром – 0,25%, никель – 0,25%.

По окончании срока эксперимента животных умерщвляли методом мгновенной высокой декапитации под лёгким эфирным наркозом, не повреждая трахеи. Вскрывали мышцы передней поверхности шеи, выделяли трахею и вводили в её просвет стальную иглу, которую фиксировали лигатурой. Через иглу в лёгкие вводили 2 мл физиологического раствора и тут же отсасывали, получая бронхиальные смывы в количестве 1–1,2 мл.

Такая методика позволила получить бронхиальные смывы, не содержащие примеси крови. Полученные бронхиальные смывы центрифугировали в течение 10 мин при 2000 об./мин, из осадка делали мазки, высушивали при комнатной температуре.

Мазки фиксировали в смеси Никифорова в течение 10 мин, после фиксации окрашивали гематоксилином и эозином. При микроскопировании каждого мазка подсчитывали 100 клеток с разных полей зрения. Жировой обмен оценивали по содержанию фосфолипидов (ФЛ) в клетке по Г.А. Меркулову [11]. Определение оксипролина в гомогенате лёгких производили по [12].

Для оценки статистических различий между двумя группами использовали t -критерий Стьюдента. Данные выражали в виде среднего значения $\pm SE$. Значения вероятности $p < 0,05$ считали значимыми.

Результаты

У экспериментальных животных 2-й группы, подвергавшихся интратрахеальному запылению со сроком 4 мес, общее количество нейтрофилов в бронхоальвеолярных смывах (БАС) по сравнению с контролем превышало в 3,7 раза (см. таблицу). Количество пылевых частиц в нейтрофилах было повышено в 2,4 раза. При этом активность фагоцитирующих нейтрофилов была снижена в 1,2 раза, а фагоцитарный индекс снижен в 1,1 раза.

По сравнению с контролем у животных 2-й опытной группы общее количество альвеолярных макрофагов снизилось практически в 2 раза, на фоне повышенного количества пылевых частиц – в 4,2 раза. При этом активность фагоцитирующих макрофагов была повышена в 1,3 раза, а фагоцитарный индекс макрофагов повышен в 2,3 раза.

Отношение нейтрофилов к альвеолярным макрофагам, указывающее на количество разрушенных альвеолярных макрофагов [13], в опытной группе было увеличено в 7,6 раза, а количество деструктивных альвеолярных макрофагов увеличено в 5,9 раза.

Содержание фосфолипидов в клетках БАС у крыс в опытной группе превышало уровень контроля и составило $2,46 \pm 0,19$ усл. ед. ($p < 0,05$) против контроля ($1,05 \pm 0,01$). Достоверно значимо повышался оксипролин в гомогенате лёгких – на 35,6% (контроль – $143,22 \pm 1,87$, опыт – $194,26 \pm 6,72$).

Полученные результаты свидетельствуют о нарушении фагоцитарного механизма самоочищения лёгких от пылевых частиц хризотил-асбеста, а также проникновение пылевых частиц через стенки альвеол и стимулирование фиброобразования продуктами распада макрофагов и развитие фиброза в лёгких. Развитие пневмофиброза подтверждается достоверно значимым повышением оксипролина в гомогенате лёгких.

Показатели нейтрофилов и альвеолярных макрофагов в бронхоальвеолярном смыве у экспериментальных животных при 4-месячной затравке пылью хризотил-асбеста**Indices of neutrophils and alveolar macrophages in bronchoalveolar lavage in experimental animals under 4-month exposure to chrysotile asbestos dust**

Группа Group	Показатель Index									
	общее количество Total count		активность фагоцитирующих Activity of phagocytic		фагоцитарный индекс Phagocytic index		количество пылевых частиц Dust particles		отношение нейтрофилов к макрофагам The ratio of neutrophils to macrophages	количество деструктивных макрофагов The number of destructive macrophages
	нейтрофилов neutrophil	макрофагов macrophages	нейтрофилов neutrophil	макрофагов macrophages	нейтрофилов neutrophil	макрофагов macrophages	в нейтрофилах in neutrophils	в макрофагах in macrophages		
1-я – контроль, n = 15	4.1 ± 1.2	88.9 ± 5.1	5 ± 0.80	6.1 ± 1.2	1.5 ± 0.07	3.1 ± 0.80	1 ± 0.10	4 ± 0.30	0.05 ± 0.01	7 ± 1.6
1 – Control, n = 15										
2-я – опытная, n = 15	15.2 ± 2.59*	42.9 ± 5.41*	3.9 ± 0.43	8.2 ± 0.54	1.31 ± 0.05*	7.3 ± 1.41*	2.4 ± 0.2*	17 ± 2.49*	0.38 ± 0.16*	41.9 ± 5.08*
2 – Experiment, n = 15										

Примечание. * – достоверность различий с контролем при $p < 0.05$.Note. * – the significance of differences with the control at $p < 0.05$.

Деструктивные изменения альвеолярных макрофагов в свою очередь могут свидетельствовать о выраженных изменениях мембранно-клеточного метаболизма, проявляющегося избыточным накоплением фосфолипидов и инициацией фиброзного процесса в лёгких.

Скопление пылевых частиц в альвеолярных макрофагах представлено на рис. 1, пылевые частицы в клетках бронхоальвеолярного смыва представлены на рис. 2 и накопление фосфолипидов в альвеолярных макрофагах – на рис. 3.

Обсуждение

В данном исследовании мы представили доказательства того, что при хронической затравке пылью хризотил-асбеста, являющейся многокомпонентной по содержанию химических соединений (диоксид кремния, диоксид магния, окись трёхвалентного железа, окись трёхвалентного алюминия, диоксид кальция, оксиды натрия, хрома и никеля) и по своим размерам относящейся к коротким волокнам, уве-

личивается количество деструктивных форм альвеолярных макрофагов, и происходит накопление фосфолипидов, что указывает на цитотоксические свойства пыли.

Кроме того, отмечаемая тенденция к повышению фагоцитарного индекса альвеолярных макрофагов также подтверждает цитотоксическое действие пылевых частиц на мембраны клеток, сопровождающееся повышением фосфолипидов.

Как известно, при фагоцитозе пылевых частиц происходит «респираторный взрыв» и активизируется оксигеназный путь 1, 2 и 3 электронного восстановления кислорода с образованием активных форм кислорода, как супероксидный радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал, гипохлорид, которые активно окисляют ненасыщенные жирные кислоты фосфолипидов [2, 14].

Недавние исследования показали, что увеличение концентрации железа в волокнах коррелирует с увеличением токсичности отчасти из-за увеличения выработки активных форм кислорода из поверхностного реактивного железа, что вызывает окислительный стресс и повреждение ДНК в

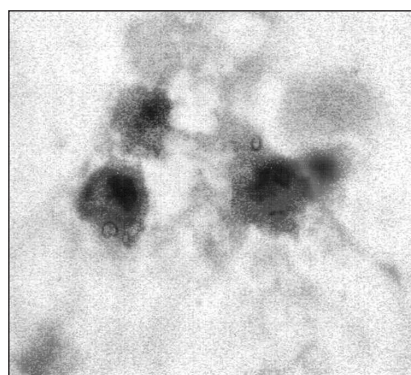


Рис. 1. Альвеолярные макрофаги у экспериментальных животных при 4-месячной интратрахеальной затравке пылью хризотил-асбеста. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. 1600.

Fig. 1. Alveolar macrophages in experimental animals under 4-month intratracheal priming with chrysotile-asbestos dust. Staining: hematoxylin and eosin. x 1600.

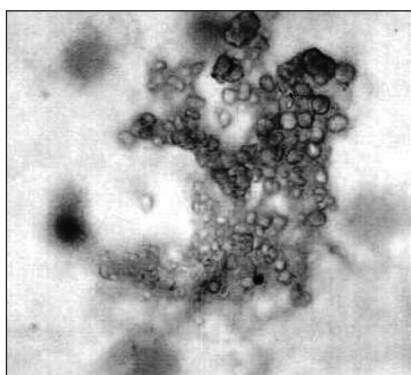


Рис. 2. Пылевые частицы в клетках бронхоальвеолярного смыва у экспериментальных животных при 4-месячной интратрахеальной затравке пылью хризотил-асбеста. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. 1600.

Fig. 2. Dust particles in cells of bronchoalveolar lavage in experimental animals under 4-month intratracheal priming with chrysotile-asbestos dust. Staining: hematoxylin and eosin. x 1600.

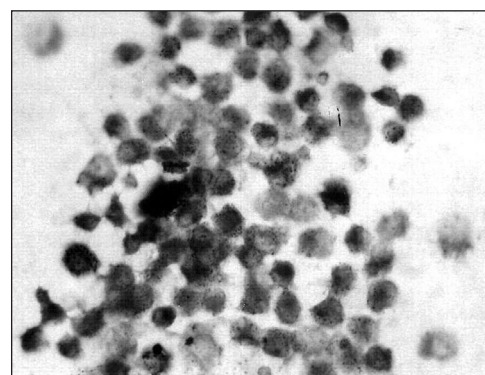


Рис. 3. Фосфолипиды в клетках бронхоальвеолярного смыва у экспериментальных животных при 4-месячной интратрахеальной затравке пылью хризотил-асбеста. Окр. гематоксилином и эозином. Ув. 1600.

Fig. 3. Phospholipids in the cells of bronchoalveolar lavage in experimental animals under 4-month intratracheal inoculation with chrysotile-asbestos dust. Staining: hematoxylin and eosin. x 1600.

окужающих клетках [15–17]. Причём увеличение продукции свободных радикалов и активных форм кислорода также может быть связано с размерами пылевых частиц, особенно наночастиц, обладающих большей адсорбционной ёмкостью и химической реакционной способностью [18].

Макрофаги при воздействии хризотила являются вторыми клетками после нейтрофилов, которые достигают места воспаления и играют главную роль в хроническом воспалении [19, 20].

Нами было показано, что подавление мобилизации альвеолярных макрофагов в условиях хронического запяления пылью хризотил-асбеста и развития хронического асептического воспаления сопровождалось выраженным увеличением активности фагоцитарного индекса, увеличением количества деструктивных форм альвеолярных макрофагов, а также повышением нейтрофилов со снижением их фагоцитирующей активности на фоне выраженной нагрузки пылевыми частицами альвеолярных макрофагов и нейтрофилов.

Таким образом, воздействие токсичных коротких волокон хризотила означает особый стресс для макрофагов, что, видимо, и обусловило привлечение нейтрофильных гранулоцитов и что является решающим шагом, который приводит к неблагоприятному воспалительному ответу.

Полученные результаты указывают на то, что развитие фиброза лёгких под действием пыли хризотил-асбеста сопровождается существенными изменениями фагоцитарного звена, в процессе которого снижается количество альвеолярных макрофагов с повышенной фагоцитарной способностью и повышается количество нейтрофилов с пониженной активностью фагоцитоза. В этой связи остаётся открытым вопрос о взаимосвязи макрофагов и нейтрофилов при фагоцитозе коротких волокон хризотил-асбеста, близких по размеру к наноструктурам, а также представляет интерес дальнейшее изучение роли провоспалительных медиаторов фагоцитов, активирующих фибробласты и, возможно, вызывающих повышенное проникновение нейтрофильных лейкоцитов в бронхоальвеолярное пространство.

Заключение

Пыль хризотил-асбеста Джетыгаринского месторождения, которая по размерам близка к наночастицам [9, 21] и многокомпонентная по химическому составу, оказывает цитотоксическое воздействие, сопровождаемое активацией фагоцитарного звена лёгких и мембранно-деструктивными изменениями клеток с накоплением фосфолипидов.

Литература

(п.п. 1, 4–6, 15–20 см. References)

2. Величковский Б.Т. Молекулярные и клеточные механизмы защиты органов дыхания от неблагоприятных воздействий. *Гигиена и санитария*. 2001; 90(5): 16–21.
3. Ерохин В.В. *Функциональная морфология лёгких*. М.: Медицина; 1987.
7. Воронов И.Е., Гурьев С.А., Коган Ф.М. Определение содержания хризотила в пыли асбестовых предприятий и его гигиеническое значение. *Гигиена и санитария*. 1983; 72(4): 44–6.
8. Ковалевский Е.В., Кашанский С.В. Современные проблемы медицины труда и промышленной экологии при использовании природных и искусственных минеральных волокон. В кн.: *Сборник статей республиканской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы медицины труда и промышленной токсикологии в Казахстане»*. Караганда; 2006: 166–8.
9. Ибраев С.А., Отаров Е.Ж., Зейниденов А.К. Некоторые данные по физико-химическим свойствам поверхности хризотил-асбестового волокна. *Вестник Карагандинского университета*. 2011; (2): 3–8.
10. Измеров Н.Ф., Денисов Э.И. Оценка профессионального риска в медицине труда: принципы, методы и критерии. *Медицина труда и промышленная экология*. 2004; (2): 17–20.
11. Меркулов Г.А. *Окраска суданом чёрным – IV на фосфолипиды. Курс патологистологической техники*. М.; 1969.
12. Борисова Л.Б., Мареева Л.Б., Узбеков В.А., Текебаева А.М. Метод определения оксипролина в печени. Информационный листок КазгосЦНТИ ПС-760331; 1998.
13. Базелюк Л.Т. Цитохимические тесты функционального состояния альвеолярных макрофагов крыс при действии угольной и кварцевой пыли. *Вестник Академии наук Казахской ССР*. 1987; (9): 68–70.
14. Байманова А.М. *Патогенетические механизмы формирования антракосиликоза*. Караганда; 2000.
21. Джаманбалин К.К. *Углеродные нанотрубки хризотил-асбеста. Учебно-методическое пособие*. Костанай; 2016.
1. Carter J.M., Corson N., Driscoll K.E. et al. A comparative dose-related prostate of anti-inflammatory mediators and submersion inhalation of carbon black. *J. Occup. Environ. Med.* 2006; 48(12): 1265–78. <https://doi.org/10.1097/01.jom.0000230489.06025.14>
2. Velichkovskiy B.T. Molecular and cellular mechanisms of protection of the respiratory system from adverse effects. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2001; 90(5): 16–21. (in Russian)
3. Erokhin V.V. *Functional Morphology of the Lungs [Funktional'naya morfologiya legkikh]*. Moscow: Meditsina; 1987. (in Russian)
4. Yasumitsu Nishimura, Megumi Maeda, Naoko Kumagai-Takei, Suni Lee, Hidenori Matsuzaki, Yasuhiko Wada, Tamako Nishiike-Wada, Hiroshi Iguchi, Takemi Otsuki. Altered functions of alveolar macrophages and NK cells involedin asbestos-related diseases. *Environ Health Prev Med.* 2013; 18:198–204. <https://dx.doi.org/10.1007/s12199-013-0333-y>
5. Kamp D.W., Liu G., Cheresh P., Kim S.J., Mueller A., Lam A.P., et al. Asbestos-induced alveolar epithelial cell apoptosis. The role of endoplasmic reticulum stress response. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2013; 49(6): 892–90. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2013-0053oc>
6. Bernstein D.M., Chevalier J., Smith P. Comparison of chrysotile: final results of the inhalation biopersistence and histopathology following short-term exposure. *Inhal. Toxicol.* 2005; 17(9): 427–49. <https://doi.org/10.1080/08958370591002012>
7. Voronov I.E., Gur'ev S.A., Kogan F.M. Determination of chrysotile in the dust of asbestos enterprises and its hygienic value. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 1983; 72(4): 44–6. (in Russian)
8. Kovalevskiy E.V., Kashanskiy S.V. Modern problems of occupational medicine and industrial ecology when using natural and artificial mineral fibers. In: *Collection of Articles of the Republican Scientific and Practical Conference with International Participation «Problems of Occupational Medicine and Industrial Toxicology in Kazakhstan» [Sbornik statey respublikanskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Problemy meditsiny truda i promyshlennoy toksikologii v Kazakhstane»]*. Karaganda; 2006: 166–8. (in Russian)
9. Ibraev S.A., Otarov E.Zh., Zeynidenov A.K. Some data on the physicochemical properties of the surface of chrysotile asbestos fiber. *Vestnik Karagandinskogo universiteta*. 2011; (2): 3–8. (in Russian)
10. Izmerov N.F., Denisov E.I. An assessment of the occupational risk in the medical sphere: principles, methods and criteria. *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya*. 2004; (2): 17–20. (in Russian)
11. Merkulov G.A. *Color of sudan black – IV on phospholipids. Course of pathological and histological technique [Okraska sudanom chernym – IV na fosfolipidy. Kurs patologogistologicheskoy tekhniki]*. Moscow; 1969. (in Russian)
12. Borisova L.B., Mareeva L.B., Uzbekov V.A., Tekebaeva A.M. Method for determining oxypoline in the liver. Information sheet of KazgosCNTI PS-760331; 1998. (in Russian)
13. Bazelyuk L.T. Cytochemical tests of the functional state of rat alveolar macrophages under the action of coal and quartz dust. *Vestnik Akademii nauk Kazhskoy SSR*. 1987; (9): 68–70. (in Russian)
14. Baymanova A.M. *Pathogenetic Mechanisms of the Formation of Anthracosilicosis [Patogeneticheskie mekhanizmy formirovaniya antrakosilikoza]*. Karaganda; 2000. (in Russian)
15. Jiang L., Akatsuka S., Nagai H., Chew S.H., Ohara H., Okazaki Y., et al. Iron overload signature in chrysotile-induced malignant mesothelioma. *J. Pathol.* 2012; 228(3): 366–77. <https://doi.org/10.1002/path.4075>
16. Foresti E., Fornero E., Lesci I.G., Rinaudo C., Zuccheri T., Roveri N. Asbestos health hazard: A spectroscopic study of synthetic goinspired Fe-doped chrysotile. *J. Hazard. Mater.* 2009; 167(1–3): 1070–9. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.01.103>
17. Pascolo L., Gianoncelli A., Schneider G., Salome M., Schneider M., Calligaro C., et al. The interaction of asbestos and iron in lung tissue revealed by synchrotron-based scanning X-ray microscopy. *Sci. Rep.* 2013; 3: 1123. <https://doi.org/10.1038/srep01123>
18. Bernstein D.M., Riego Sintes J.M., Ersboell B.K., Kunert J. Biopersistence of synthetic mineral fibers as a predictor of chronic inhalation toxicity in rats. *Inhal. Toxicol.* 2001; 13(10): 851–75. <https://doi.org/10.1080/089583701752378133>
19. Kumar V., Abbas A.K., Aster J.C. *Robbins Basic Pathology*. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013.
20. Nagai H., Okazaki Y., Chew S.H., Misawa N., Yamashita Y., Akatsuka S., et al. Diameter of multi-walled carbon nanotubes is a critical factor in mesothelial injury and subsequent carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011; 108(49): E1330–8. <https://doi.org/10.1073/pnas.1110013108>
21. Dzhamanbalin K.K. *Carbon Nanotubes of Chrysotile Asbestos. Educational-Methodical Manual [Uglerodnye nanotrubki khrizotil-asbesta. Uchebno-metodicheskoe posobie]*. Kostanay; 2016. (in Russian)