

УДК 616.8-092

Л.А. Шарафутдинова¹, А.М. Федорова¹, С.А. Башкатов¹,
К.Н. Синельников¹, В.В. Валиуллин²

НЕЙРОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА

¹Башкирский государственный университет, г. Уфа, Российская Федерация;

²Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Российская Федерация

L.A. Sharafutdinova¹, A.M. Fedorova¹, S.A. Bashkatov¹,
K.N. Sinelnikov¹, V.V. Valiullin²

NEUROTOXIC EFFECTS OF THE TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

¹Bashkir State University, Ufa, Russian Federation;

²Kazan Medical University, Kazan, Russian Federation

Резюме. Введение. Интенсивное развитие нанотехнологий, повсеместное использование наночастиц (НЧ), многие из которых небезопасны для органов и тканей организма, могут рассматриваться как одна из потенциальных угроз, приводящих к развитию различных заболеваний. Ввиду того, что НЧ способны проходить через гематические барьеры, многие из них могут оказаться опасными для различных нервных структур и могут стать причиной появления разнообразных нарушений функционирования ЦНС. **Цель работы:** изучение амплитудных и спектральных характеристик электроэнцефалограммы головного мозга и особенностей поведения крыс линии Вистар на фоне интраназального введения НЧ диоксида титана (TiO₂). **Материал и методы.** На фоне интраназального введения НЧ TiO₂ осуществляли регистрацию ЭЭГ мозга животных с помощью монополярных игольчатых электродов на 8-канальном электроэнцефалографе «Нейрон-Спектр-1В» и оценивали уровень тревожности крыс с помощью установки «Приподнятый крестообразный лабиринт». **Результаты.** Изучение амплитудных характеристик ЭЭГ крыс показало, что через 14 дней интраназального введения НЧ TiO₂ средняя амплитуда ритмов снижалась как во фронтальной, так и в теменной областях коры (p<0,05). Сравнительный анализ спектров мощности электроэнцефалограммы позволил установить, что к 14-му дню эксперимента отмечаются выраженные изменения биоэлектрической активности нейронов фронтальной коры головного мозга в виде преобладания медленно-волновой активности θ- и Δ-диапазона за счет уменьшения относительной мощности α-, β1-, β2-ритмов. Изучение особенностей поведения показало, что интраназальное введение НЧ TiO₂ вызывает повышение степени тревожности крыс и уровня исследовательского поведения. **Заключение.** На основании результатов проведенного нами исследования можно заключить, что интраназальное введение НЧ TiO₂ приводит к изменению амплитудных и спектральных характеристик электроэнцефалограммы головного мозга и по-

Abstract. Introduction. The intensive development of nanotechnology, the widespread use of nanoparticles (NP), many of which are not safe for organs and tissues of the body, can be considered as one of the potential threats leading to the development of various diseases. In view of the fact that NP are able to pass through hematopoietic barriers many of them are potentially dangerous for different CNS structures and can cause a variety of dysfunction of the central nervous system. The purpose of the study: to study the amplitude and spectral characteristics of the brain's electroencephalogram and the behavior of Wistar rats against the background of intranasal administration of the titanium dioxide NP (TiO₂). **Material and methods.** Against the background of intranasal administration of NP TiO₂, of the animals brain EEG was recorded with the help of monopolar needles on an 8-channel Neuron-Spectrum-1B electroencephalograph and the level of anxiety in rats was assessed using the «Elevated cross-shaped labyrinth» setup. **Results.** The study of the amplitude characteristics of the rats EEG showed that after 14 days of intranasal administration of NP TiO₂ the average rhythms amplitude decreased both in the frontal and parietal regions of the cortex (p<0.05). A comparative analysis of the power spectra of the electroencephalogram made it possible to establish that by the 14th day of the experiment pronounced changes in the bioelectrical activity of the brains frontal cortex neurons are noted in the form of predominance of the slow wave activity of the θ and Δ bands due to a decrease in the relative power of the α, β1, β2 rhythms. The study of the behavioral peculiarities showed that intranasal administration of NP TiO₂ causes an increase in the degree of anxiety in rats and in the level of research behavior. **The conclusion.** On the basis of the results of our study, we can conclude that intranasal management of NP TiO₂ leads to a change in the amplitude and spectral characteristics of the brain's electroencephalogram and the behavior of the rats, which indicates their possible neurotoxic effect.

ведения крыс, что свидетельствует об их возможном нейротоксическом эффекте.

Ключевые слова: нейротоксичность, наночастицы, диоксид титана, фронтальная кора, теменная кора, электроэнцефалограмма, ритмы мозга

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Шарафутдинова Люция Ахтямовна
sharafla@yandex.ru

Дата поступления 22.01.2018

Образец цитирования:

Л.А. Шарафутдинова, А.М. Федорова, С.А. Башкатов, К.Н. Синельников, В.В. Валиуллин. Нейротоксические эффекты наночастиц диоксида титана. Вестник уральской медицинской академической науки. 2018, Том 15, №1, с. 87–95, DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-1-87-95

Keywords: neurotoxicity, nanoparticles, titanium dioxide, frontal cortex, electroencephalography, oscillations

There is no conflict of interest.

Contact information of the author responsible for correspondence:

Lucia A. Sharafutdinova
sharafla@yandex.ru

Received 22.01.2018

For citation:

L.A. Sharafutdinova, A.M. Fedorova, S.A. Bashkatov, K.N. Sinelnikov, V.V. Valiullin. Neurotoxic Effects of the Titanium Dioxide Nanoparticles. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2018, Vol. 15, no. 1, pp. 87–95. DOI: 10.22138/2500-0918-2018-15-1-87-95 (In Russ)

Введение

Интенсивное развитие нанотехнологий, повсеместное использование наночастиц (НЧ), многие из которых небезопасны для органов и тканей организма, могут рассматриваться как одна из потенциальных угроз, приводящих к развитию различных заболеваний. Массовое применение НЧ объясняется тем, что в наноразмерном состоянии (<100 нм) любые соединения приобретают необычные химические, физические и биологические свойства, позволяющие использовать их для улучшения качества многих промышленных, фармацевтических и медицинских изделий. В то же время вызывает опасение, что именно высокая каталитическая активность НЧ может представлять биологическую опасность и потенциальную угрозу для здоровья человека. Ввиду того, что НЧ способны проходить через гематические барьеры, многие из них могут быть опасными для различных нервных структур и могут стать причиной появления разнообразных нарушений функционирования ЦНС [1, 2].

Из наноматериалов в наиболее значительных масштабах используются НЧ диоксида титана (TiO₂). Токсичность НЧ TiO₂ и молекулярные механизмы их действия на различные ткани организма в последние годы активно изучаются [3-5], однако до сих пор нет полноценной картины последствий влияния наноматериалов на живые организмы. Так, в исследованиях *in vitro* показано, что воздействие различных НЧ приводит к повышенной генерации активных форм кислорода в клетках организма [6, 7], что, по мнению многих авторов, является одним из факторов, вызывающих токсическое влияние наночастиц на большин-

ство изученных клеток. Применительно к НЧ TiO₂ обнаружено, что их воздействие вызывает усиление перекисного окисления липидов, повреждение ДНК, активацию ряда каспаз и последующую гибель клеток [8]. Основные пути поступления наночастиц в организм, как и других ксенобиотиков, — это желудочно-кишечный тракт, кожа и дыхательные пути. Так, показано, что НЧ TiO₂ легко проникают в организм при вдыхании, после чего накапливаются в головном мозге, проходя гематоэнцефалический барьер и обнаруживаются преимущественно в гиппокампе и коре головного мозга крысы [9], где у них появляется возможность прямого контакта с различными клетками ЦНС. Результаты такого взаимодействия могут вызывать негативные последствия, что представляет несомненный интерес как для теоретической медицины, так и для клиники, т.к. механизмы, лежащие в основе возможной нейротоксичности НЧ, до сих пор остаются неясными.

Одним из эффективных методов оценки функционального состояния структур головного мозга и нейрофизиологических механизмов развития различных видов патологий ЦНС является анализ спектральной мощности электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Этот метод является адекватным инструментом выявления различных психоневрологических расстройств, включая дисфункциональное мышление и поведение, поскольку доказано, что когнитивные функции ЦНС в зависимости от активации определенных подкорковых и корковых структур связаны с ритмической активностью нейронов и с синхронизацией их ритмов в тета-, альфа-, бета- и гамма-диапазонах [10].

Целью данной работы явилось изучение амплитудных и спектральных характеристик электроэнцефалограммы головного мозга и особенностей поведения крыс линии Вистар на фоне интраназального введения НЧ TiO_2 .

Материал и методы

Объектом исследования являлись половозрелые самцы крыс линии Вистар массой 170–180 г ($n=20$). Всех животных содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе, при свободном доступе к воде и пище, в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

В работе использовалась дисперсия диоксида титана (рутильная форма), полученная разведением порошка TiO_2 в дистиллированной воде. Агрегацию наночастиц предотвращали обработкой суспензии нанодисперсного TiO_2 в ультразвуковой ванне. Распределение частиц TiO_2 по размерам определяли на анализаторе размеров частиц Shimadzu SALD-7101. Средний размер НЧ TiO_2 составил 40–60 нм.

Регистрация ЭЭГ осуществлялась с использованием программного обеспечения «Нейрон-Спектр.NET» с помощью монополярных игольчатых электродов на 8-канальном электроэнцефалографе «Нейрон-Спектр-1В» для ветеринарии («Нейрософт», Иваново) в частотном диапазоне от 1 до 35 Гц. Частота дискретизации составила 250 Гц. Применялся запирающий фильтр, вырезающий 50 Гц колебания, связанные с сетевой наводкой. ЭЭГ регистрировали в форме фоновой пробы в течение 60 минут в диапазонах: Δ — (1–4 Гц), θ — (4–8 Гц), α — (8–14 Гц), β — ритм низкой частоты (НЧ) (14–24 Гц), β -ритм высокой частоты (ВЧ) (24–32 Гц). ЭЭГ регистрировали за сутки до начала эксперимента (контроль) и на 14-й, 30-й дни интраназального введения НЧ TiO_2 в дозе 50 мг/кг. Два регистрирующих игольчатых электрода вводили подкожно, в области правого полушария в теменную и фронтальную части головы. Референтный электрод вводили в правую часть головы, за ухом животного. В качестве земляного электрода использовали клипсовый электрод, который фиксировали на хвосте у крыс. Каждый электрод представлял собой иглу из нержавеющей стали (длина 12 мм, диаметр 0,6 мм). Для лучшего контакта для клипсового электрода использовали электродный гель «Унигель». Артефактные участки, вызванные движениями крыс, были удалены из анализа после предварительного визуального просмотра по всей длине записи. Программное обеспечение «Нейрон-Спектр.NET» позволяет автоматически генерировать амплитудные и спектральные характеристики электроэнцефалограммы и анализировать с помощью вейвлет-преобразования по всей

длине записи или по отдельным эпохам. Вейвлет-преобразование, в отличие от преобразования Фурье, дает информацию одновременно о частотной и временной структуре сигнала, что позволяет исследовать частотно-временную динамику процессов. Вейвлет-преобразование сигнала состоит в его разложении по базису, сконструированному из обладающих определенными свойствами функций, посредством масштабных изменений и переносов.

Непрерывное вейвлет-преобразование W функции f задается формулой (Daubechies I, 1992): $Wf(a,b) = 1/\sqrt{|a|} \int f(x) \psi \{(x-b)/a\} dx$, где a, b — коэффициенты масштабирования и сдвига соответственно. Коэффициент « b » отвечает за сдвиг по времени, а коэффициент « a » — за частотную характеристику.

Для частотно-временного анализа часто используют вейвлет Морле, который определяется следующим выражением: $\psi(x) = C_1 \exp(-x^2/2) \cos(C_2 x)$, где C_1, C_2 — константы.

Спектрограммы Морле сигнала ЭЭГ имеют вид системы хребтов, наиболее мощный из которых мы принимаем за доминирующий процесс. На основе вейвлет-анализа были построены амплитудные и частотные вейвлетные спектрограммы для отрезков ЭЭГ продолжительностью 8–10 сек. В результате анализа были получены основные усредненные характеристики амплитуды и частоты ритмов ЭЭГ.

Оценка уровня тревожности крыс проведена с помощью установки «Приподнятый крестообразный лабиринт» (НПК «Open Science», Россия), состоящей из двух закрытых (аналог норы) и двух открытых (потенциально опасных) рукавов. В течение 5 мин регистрировали показатели исследовательской активности: количество выходов в открытые рукава лабиринта, число стоек в открытых и закрытых рукавах; уровень тревожности животного: время, проведенное в открытых и закрытых рукавах установки (сек), количество свешиваний с открытого рукава («оценка риска»).

Первичные экспериментальные данные обрабатывались с помощью методов математической статистики и пакетов программ «STATISTICA» v.10.0. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами использовали U -критерий Манна-Уитни, однофакторный дисперсионный анализ. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На полученных нами записях электроэнцефалограммы фронтальной и теменной областей коры крыс контрольной группы электрическая активность определялась в частотном диапазоне от 1 до 35 Гц. Изучение амплитудных характеристик ЭЭГ крыс контрольной группы показало, что средняя амплитуда ритмов фронтальной коры составила $10,33 \pm 1,22$ мкВ, а теменной — $19,33 \pm 3,99$ мкВ. Через 14 дней интрана-

зального введения НЧ TiO₂ этот показатель снижался в обеих изученных областях коры ($p < 0,05$): средняя амплитуда электрической активности во фронтальной коре составила $8,57 \pm 1,65$ мкВ, в теменной - $13,28 \pm 3,71$ мкВ (рис. 1). К 30-му дню эксперимента различий по сравнению с контролем выявлено не было ($p > 0,05$). Существует мнение, что снижение амплитуды ритмов ЭЭГ мозга может быть связано как с уменьшением количества нейронов и синаптических связей между ними, так и/или с нарушением локальной синхронизации между отдельными функционально связанными популяциями нейронов. Последнее может быть результатом сбоя ритма тормозных интернейронов, демиелинизации их отростков, нарушения глутаматергической передачи и кортикокортикальных или кортико-таламо-кортикальных связей [11, 12].

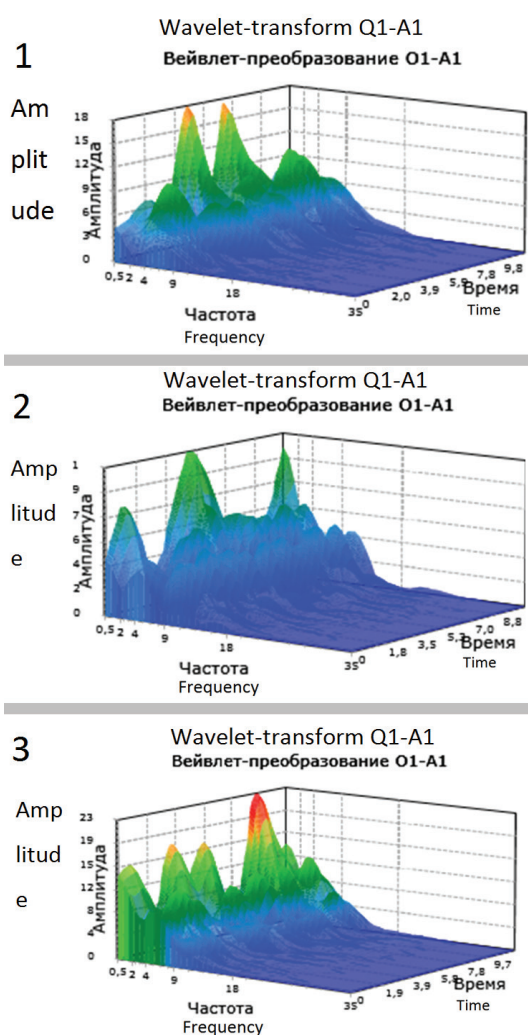


Рисунок 1. Амплитуда ритмов фоновой ЭЭГ фронтальной области коры головного мозга крыс в контроле (1), на 14-й (2) и 30-й (3) дни интраназального введения НЧ TiO₂

Figure 1. The amplitude of the rhythms of the background EEG of the rats cerebral cortex frontal region in the control (1), on the 14th (2) and 30th (3) days of intranasal administration of TiO₂ NP.

Сравнительный анализ спектров мощности электроэнцефалограммы позволил установить, что к 14-му дню эксперимента отмечаются выраженные изменения биоэлектрической активности нейронов фронтальной коры головного мозга в виде преобладания медленноволновой активности θ - и Δ -диапазона (Таблица 1) за счет уменьшения относительной мощности α -, β_1 -, β_2 -ритмов. По мнению многих авторов, появление медленноволновых θ - и Δ -ритмов является патологическим признаком, что обычно связано с дистрофическими, демиелинизирующими и дегенеративными поражениями головного мозга [13].

Поскольку известно, что Δ -ритм (1–4 Гц) играет большую роль в реализации когнитивных задач, участвует в мотивационных ситуациях, связанных с опасностью или удовлетворением различных потребностей мозга, то увеличение мощности ритма на фоне интраназального введения НЧ TiO₂ свидетельствует об увеличении поведенческой активности и усилении панического состояния животных [14].

Таким образом, обнаруженное нами увеличение соотношения θ - и Δ -ритмов во фронтальной коре головного мозга крыс на фоне интраназального введения НЧ TiO₂ позволяет заключить о возможном развитии нейродегенеративных изменений в изучаемой области коры, характерных для неврозоподобного синдрома.

Известно, что поведенческие реакции напрямую связаны с морфофункциональными характеристиками нейронов как ЦНС, так и периферической нервной системы. При анализе поведения исследователи уделяют внимание состоянию тревожности животных и признакам депрессивности. Именно тревожность является наиболее часто встречающимся спутником эмоционального напряжения, первой реакцией ЦНС на стрессор. Традиционно для моделирования подобных состояний используют поведенческие тесты, которые основаны на анализе спонтанного поведения при помещении животных в незнакомую для них среду. Ожидание потенциальной опасности и новизна окружающей среды в этих тестах и порождают тревожность и депрессию. Показано, что экзогенные вещества, сдвигающие баланс между процессами возбуждения и торможения в ЦНС, способны изменять поведенческие реакции в отношении тревожности. По этой причине нами была проведена оценка уровня тревожности крыс на фоне интраназального введения НЧ TiO₂ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», являющийся одним из самых популярных тестов из всех имеющихся в настоящее время. Этот тест используется в качестве скринингового теста во многих нейробиологических исследованиях тревожности [15].

Результаты проведенного исследования показали, что через 14 дней эксперимента крысы значительно больше времени проводили в закрытом рукаве лаби-

ринта по сравнению с контролем (табл. 2). Этот факт, в совокупности с боязнью животных высоты (уменьшение числа свешиваний), указывает на то, что интраназальное введение НЧ TiO_2 вызывает повышение степени тревожности крыс. Кроме того, у животных повышается уровень исследовательского поведения, на что указывает увеличение числа стоек как в свет-

лом, так и в темном рукавах лабиринта ($p < 0,05$). А увеличение количества выглядываний на 14-й и 30-й дни эксперимента по сравнению с контрольной группой, является признаком возрастания сложности принятия решения. В совокупности эти параметры по сложившемуся представлению свидетельствуют об увеличении уровня тревожности животных.

Таблица 1

Спектральные характеристики ритмов фоновой ЭЭГ фронтальной, теменной областей коры головного мозга крыс на 14-й и 30-й дни интраназального введения НЧ TiO_2

Table 1

Spectral characteristics of the rhythms of the background EEG of the rats cerebral frontal, parietal region on the 14th and 30th days of intranasal administration of TiO_2 , NP

	фронтальная область коры cortex frontal region			теменная область коры/ parietal frontal region		
	Контроль/control	14 дней/ 14 days	30 дней/ 30 days	Контроль/ control	14 дней/ 14 days	30 дней/ 30 days
Δ -ритм, 1-4 Гц/ Δ -rhythm, 1-4 Hz	52,87±2,51	50,18±4,9	62,23±5,27*	72,83±2,79	77,38±5,14	82,2±3,22*
θ -ритм, 4-8 Гц/ θ -rhythm, 4-8 Hz	18,76±1,08	23,75±1,51*	22,73±0,88*	12,06±2,06	11,92±2,26	13,66±1,78*
α -ритм, 8-14 Гц/ α -rhythm, 8-14 Hz	13,01±1,41	12,71±1,63	8,05±1,73	3,05±0,45	3,62±0,76	4,7±0,61
β_1 -ритм НЧ, 14-24 Гц/ β_1 -rhythm, 14-24 Hz	6,89±1,11	5,85±0,83	4,03±0,99	1,3±0,36	2,9±0,95	1,75±0,20
β_2 -ритм ВЧ, 24-32 Гц/ β_2 -rhythm, 24-32 Hz	7,38±2,11	7,15±0,94	5,35±0,61	1,3±0,41	3,9±1,64	1,91±0,49

Примечание: статистически значимые различия по сравнению с группой контроль ($p < 0,05$).

Таблица 2

Характеристики поведения крыс в приподнятом крестообразном лабиринте у контрольной группы и на 14-й, 30-й дни интраназального введения НЧ TiO_2

Table 2

Characteristics of the rats behavior in an elevated cross-shaped labyrinth in the control group and on the 14th, 30th days of intranasal administration of TiO_2 , NP

	Контроль/ control	14 дней/ 14 days	30 дней/ 30 days
Количество свешиваний, шт/ the number of head-dipping over the sides of the open arms	14,5±1,61	11,8±1,84*	11±1,71*
Количество выглядываний, шт/ the number of closed arm returns	3,33±0,84	5,33±0,89*	5,62±1,07*
Количество стоек в открытом рукаве, шт/ the number of open arm entries	2,48±0,83	2,91±0,61	4,83±1,35*
Количество стоек в закрытом рукаве, шт/ the number closed arm entries	5,02±1,6	6,50±1,23	7,66±1,60*
Время нахождения в открытом рукаве, с/ open arm time, sec	228,66±21,62	184,21±11,53*	173,33±26,09
Время нахождения в закрытом рукаве, с/ closed arm time, sec	71,33±21,62	115,5±11,53*	126,66±26,09

Примечание: статистически значимые различия по сравнению с группой контроль ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные нами данные о влиянии НЧ TiO_2 свидетельствуют о том, что они оказывают негативное влияние на функции ЦНС, что хорошо согласуется с результатами других исследований, подтверждающих, что НЧ способны вызывать нейротоксический эффект.

Вопросы нейротоксичности наноматериалов привлекают особое внимание ввиду того, что в отличие от других тканей нейроны не обладают выраженной способностью к регенерации, а деструктивные процессы, как последствия любого повреждающего действия, являются необратимыми. Как уже было отмечено выше, в организм человека НЧ могут попасть

различными путями — ингаляционно, трансдермально, перорально, мигрируя в различные органы и ткани, где они могут накапливаться и вызывать самые разные повреждения. Полученные в последние годы данные о накоплении НЧ в различных структурах головного мозга при разных способах введения являются одним из признаков несостоятельности гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), что подтверждается как результатами многочисленных экспериментальных исследований, так и полученными в этой работе данными. В качестве наиболее вероятного механизма преодоления наночастицами ГЭБ рассматривается опосредуемый рецепторами эндоцитоз, а этот

путь часто используется для создания моделей адресной доставки лекарственных средств в головной мозг с помощью наноматериалов [16]. На экспериментальной модели ГЭБ, состоящей из культуры монослоя эндотелиальных клеток в присутствии астроцитарной глии [17], показано накопление НЧ в эндотелиальных клетках, что приводило к повышению уровня противовоспалительных цитокинов и хемокинов в них, которые могут инициировать изменение проницаемости и адгезивных свойств ГЭБ. Так, при использовании нано-аэрозоля НЧ TiO_2 в условиях *in vitro* повышение уровня $\text{IL-1}\beta$ сопровождалось увеличением экспрессии эндотелиального сосудистого фактора роста сосудов (VEGF), что может косвенно свидетельствовать о возможном изменении проницаемости ГЭБ [18].

Приведенные выше данные согласуются с известными фактами о том, что хроническое нейровоспаление и нарушение функционирования ГЭБ может привести к нейрональной дисфункции, лежащей в основе различных видов патологий в ЦНС, включая и нейродегенеративные заболевания [19]. В других работах было показано, что введение НЧ TiO_2 животным сопровождается не только мощным воспалительным ответом, но и нарушением регуляции экспрессии генов белков внеклеточного матрикса, а также белков-транспортеров (например глюкозы, трансферрина) [20].

В литературе последних лет активно обсуждаются возможные механизмы миграции различных наночастиц в головной мозг через обонятельные пути, минуя ГЭБ. Экспериментально доказано, что при интраназальном введении, наночастицы, мигрируя через аксоны, входящие в состав обонятельного и тройничного нервов, способны депонироваться в обонятельной луковице, стриатуме, гиппокампе, стволе мозга, мозжечке и лобной коре, и, как уже отмечалось выше, вызывая повышенную генерацию активных форм кислорода (АФК). Известно, что клетки ЦНС особенно восприимчивы к окислительному стрессу ввиду высокого потребления кислорода, слабой антиоксидантной способности и необратимой терминальной дифференцировки нейронов. Обнаружено, что большинство изученных НЧ, попадая в нервные клетки, накапливаются в митохондриях, что ведет к повреждению их мембраны, нарушению в работе дыхательной цепи и, как следствие этого, увеличению производства АФК [21]. Применительно к НЧ TiO_2 показано, что они вызывают повышение генерации АФК в клетках микроглии, также нарушая работу митохондрий [22], изменяя электрогенные характеристики их мембраны с последующим увеличением доли маркеров апоптоза Bax/Bcl-2 , что указывает на сопряженность процессов нарушения функционирования митохондрий и возможностью вступления клеток в апоптоз [23].

Окислительный стресс и нарушение функций мито-

хондрий рассматривается в настоящее время как один из важнейших и возможных факторов развития нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера, Паркинсона и других психоневрологических расстройств [24]. Хотя на сегодняшний день нет однозначной концепции молекулярных основ патогенеза этих заболеваний, считается, что одной причиной, приводящей к гибели нервных клеток и, как следствие этого, к когнитивным нарушениям, является образование различных внутриклеточных белковых агрегатов [25]. Например, согласно амилоидной гипотезе патогенеза болезни Альцгеймера агрегаты бета-амилоидного пептида вызывают гибель нейронов и воспалительные процессы в ЦНС. Причины образования таких агрегатов многообразны, в том числе окисление белков в результате повышенного образования АФК, воздействия на клетки генетических и токсических факторов. Так, в экспериментах *in vitro* показано, что некоторые НЧ, в том числе и НЧ TiO_2 (20 нм) ускоряют фибринолиз и образование агрегатов бета-амилоидного пептида в нейронах ЦНС, тем самым это рассматривается как отягчающий фактор возникновения указанных патологий.

Обнаруженные нами изменения поведения животных на фоне интраназального введения НЧ TiO_2 , помимо изменения биоэлектрической активности нейронов головного мозга, можно объяснить также уменьшением содержания некоторых нейромедиаторов, таких как норадреналина, дофамина и его метаболита в этих условиях, что уже было показано в работе Янг и соавт. [26]. Эти расстройства в моноаминергических системах мозга могут проявляться в виде психических заболеваний, таких как шизофрения и депрессии [27, 28]. При изучении влияния пренатального введения беременным самкам крыс НЧ TiO_2 Кью и др. [29] обнаружили признаки повреждения мозга новорожденных животных, что свидетельствует об эмбриотоксичности этих НЧ.

[30] Кроме того, проведенные указанными авторами тесты продемонстрировали нарушения эмоционального поведения и повышение уровня депрессивности животных на фоне воздействия НЧ TiO_2 .

Заключение

Таким образом, можно заключить, что основные механизмы влияния НЧ на нейроны — окислительный стресс, апоптоз, воспалительная реакция, повреждение органоидов клетки, сигнальных путей, нарушение регуляции синаптической пластичности, несомненно, находят отражение в обнаруженных нами изменениях как спектральных характеристик ритмов ЭЭГ головного мозга, так и поведения животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mushtaq G., Khan J.A., Joseph E., Kamal M.A. Nanoparticles, Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Curr. Drug Metab.* 2015; 16 (8): 676-84.
2. Win-Shwe T.T., Fujimaki H. Nanoparticles and neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(9): 6267–6280. doi:10.3390/ijms12096267
3. Hongbo S., Ruth M., Vincent C., Jinsbun Z. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology.* 2013; 10(15): 1-33.
4. Songo B., Liu J., Feng X., Wi L., Shao L. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Nanoscale res. Lett.* 2015; 10(1): 1042.
5. Shah S.N., Shah Z., Hussain M., Khan M. Hazardous Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles in Ecosystem. *Bioinorganic Chemistry and Applications.* 2017; doi.org/10.1155/2017/4101735.
6. Fröhlich E. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Curr. Drug. Metab.* 2013. 14 (9): 976–988.
7. Liu Y., Gao Y., Liu Y., Li B., Chen C., Wu G. Oxidative stress and acute changes in murine brain tissues after nasal instillation of copper particles with different sizes. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014 Jun; 14(6): 4534-40.
8. Park E., Yi J., Chung K. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology Letters.* 2008. 180: 222–229.
9. Czajka M., Sawicki K., Sikorska K., Popek S., Kruszewski M., Kapka-Skrzypczak L. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles in central nervous system. *Toxicol In Vitro.* 2015 Aug; 29 (5):1042-52. doi: 10.1016/j.tiv.2015.04.004.
10. Uhlhaas P.J., Haenschel C., Nikolić D., Singer W. The Role of Oscillations and Synchrony in Cortical Networks and Their Putative Relevance for the Pathophysiology of Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008 Sep; 34(5):927-43. doi: 10.1093/schbul/sbn062.
11. Selemon L.D., Goldman-Rakic P.S. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 1999; 45: 17–25.
12. Lewis D.A., Hashimoto T., Volk D.W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005; 6: 312–324.
13. Javitt D.C., Spencer K.M., Thaker G.K., Winterer G., Hajos M. Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2008;7:68–83.
14. Кустубаева А.М. Возрастная динамика ритмов электрической активности мозга. Уровень тревожности и ЭЭГ-индексы. *Экспериментальная психология.* 2012; 5(3): 5–20.
15. Amara S., Khemissi W., Mrad I., Rihane N., Ben Slama I., Mir L.E., Jeljeli M., Ben Rhouma K., Abdelmelek H., Sakly M. Effect of TiO₂ nanoparticles on emotional behavior and biochemical parameters

REFERENCES

1. Mushtaq G., Khan J.A., Joseph E., Kamal M.A. Nanoparticles, Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Curr. Drug Metab.* 2015; 16 (8): 676-84.
2. Win-Shwe T.T., Fujimaki H. Nanoparticles and neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2011; 12(9): 6267–6280. doi:10.3390/ijms12096267.
3. Hongbo S., Ruth M., Vincent C., Jinsbun Z. Titanium dioxide nanoparticles: a review of current toxicological data. *Particle and Fibre Toxicology.* 2013; 10(15): 1-33.
4. Songo B., Liu J., Feng X., Wi L., Shao L. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Nanoscale res. Lett.* 2015; 10(1): 1042.
5. Shah S.N., Shah Z., Hussain M., Khan M. Hazardous Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles in Ecosystem. *Bioinorganic Chemistry and Applications.* 2017; doi.org/10.1155/2017/4101735.
6. Fröhlich E. Cellular Targets and Mechanisms in the Cytotoxic Action of Non-biodegradable Engineered Nanoparticles. *Curr. Drug. Metab.* 2013. 14 (9): 976–988.
7. Liu Y., Gao Y., Liu Y., Li B., Chen C., Wu G. Oxidative stress and acute changes in murine brain tissues after nasal instillation of copper particles with different sizes. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014 Jun; 14(6): 4534-40.
8. Park E., Yi J., Chung K. Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells. *Toxicology Letters.* 2008. 180: 222–229.
9. Czajka M., Sawicki K., Sikorska K., Popek S., Kruszewski M., Kapka-Skrzypczak L. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles in central nervous system. *Toxicol In Vitro.* 2015 Aug; 29 (5):1042-52. doi: 10.1016/j.tiv.2015.04.004.
10. Uhlhaas P.J., Haenschel C., Nikolić D., Singer W. The Role of Oscillations and Synchrony in Cortical Networks and Their Putative Relevance for the Pathophysiology of Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008 Sep; 34(5):927-43. doi: 10.1093/schbul/sbn062.
11. Selemon L.D., Goldman-Rakic P.S. The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry.* 1999; 45: 17–25.
12. Lewis D.A., Hashimoto T., Volk D.W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* 2005; 6: 312–324.
13. Javitt D.C., Spencer K.M., Thaker G.K., Winterer G., Hajos M. Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2008;7:68–83.
14. Kustubayeva A.M. Age dynamics of rhythms of brain electrical activity. Level of anxiety and EEG indices [Vozrastnaja dinamika ritmov `elektricheskoy aktivnosti mozga. Uroven' trevozhnosti i EEG-indeksy]. *Experimental Psychology [Eksperimental'naja psihologija].* 2012. 5 (3): 5-20. (in Russ)
15. Amara S., Khemissi W., Mrad I., Rihane N.,

- in adult Wistar rats. *Gen Physiol. Biophys.* 2013 Jun; 32(2):229-34. doi: 10.4149/gpb_2013015.
16. Yang Z., Liu Z.W., Allaker R. P., Reip P., Oxford J., Ahmad Z., Ren G. A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. *Journal of the Royal So.* 2010; 17(4):411–422.
17. Naik P., Cucullo L. In Vitro Blood–Brain Barrier Models: Current and Perspective Technologies. *J. Pharm Sci.* 2012 Apr; 101(4): 1337–1354.
18. Disdier C., Chalansonnet M., Gagnaire F., Gaté L., Cosnier F., Devoy J., Saba W., . Lund A. K., Brun E., Mabondzo A. Brain Inflammation, Blood Brain Barrier dysfunction and Neuronal Synaptophysin Decrease after Inhalation Exposure to Titanium Dioxide Nano-aerosol in Aging Rats. *Sci Rep.* 2017; 7: 12196. doi:10.1038/s41598-017-12404-5.
19. Trickler W.J., Lantz S.M., Murdock R. C., Schrand A. M., Robinson B. L., Newport G. D., Schlager J. J., Oldenburg S. J., Paule M. G., Slikker W. Jr., Hussain S. M., Ali S. F. Brain microvessel endothelial cells responses to gold nanoparticles: In vitro pro-inflammatory mediators and permeability. *Nanotoxicology.* 2011; 5(4):479–492.
20. Afeseh Ngwa H., Kanthasamy A., Gu Y., Fang N., Anantharam V., Kanthasamy A. G. Manganese nanoparticle activates mitochondrial dependent apoptotic signaling and autophagy in dopaminergic neuronal cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011;256(3):227–240.
21. Brun E., Carriere M., Mabondzo A. In vitro evidence of dysregulation of blood-brain barrier function after acute and repeated/long-term exposure to TiO(2) nanoparticles. *Biomaterials.* 2012; 33(3):886–896.
22. Yu K.N., Yoon T.J., Minai-Tehrani A. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. *Toxicol. In Vitro.* 2013;27(4):1187–1195.
23. Huerta-Garcia E., Perez-Arizti J.A., Marquez-Ramirez S.G. Titanium dioxide nanoparticles induce strong oxidative stress and mitochondrial damage in glial cells. *Free Radical Biol. Med.* 2014;73:84–94.
24. Tobe E.H. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and major depressive disorder. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2013;9:567–573.
25. Brieger K., Schiavone S., Miller F.J., Krause K.H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med. Wkly.* 2012; 142: 13659.
26. Zhang L., Bai R., Liu Y., Meng L., Li B., Wang L., Xu L., Le Guyader L., Chen C. The dose-dependent toxicological effects and potential perturbation on the neurotransmitter secretion in brain following intranasal instillation of copper nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2012;6(5):562–575.
27. Ressler K.J., Nemeroff C.B. Role of serotonergic and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depress Anxiety.* 2000; 12(Suppl 1):2–19
- Ben Slama I., Mir L.E., Jeljeli M., Ben Rhouma K., Abdelmelek H., Sakly M . Effect of TiO2 nanoparticles on emotional behavior and biochemical parameters in adult Wistar rats. *Gen Physiol. Biophys.* 2013 Jun; 32(2):229-34. doi: 10.4149/gpb_2013015.
16. Yang Z., Liu Z.W., Allaker R. P., Reip P., Oxford J., Ahmad Z., Ren G. A review of nanoparticle functionality and toxicity on the central nervous system. *Journal of the Royal So.* 2010; 17(4):411–422.
17. Naik P., Cucullo L. In Vitro Blood–Brain Barrier Models: Current and Perspective Technologies. *J. Pharm Sci.* 2012 Apr; 101(4): 1337–1354.
18. Disdier C., Chalansonnet M., Gagnaire F., Gaté L., Cosnier F., Devoy J., Saba W., . Lund A. K., Brun E., Mabondzo A. Brain Inflammation, Blood Brain Barrier dysfunction and Neuronal Synaptophysin Decrease after Inhalation Exposure to Titanium Dioxide Nano-aerosol in Aging Rats. *Sci Rep.* 2017; 7: 12196. doi:10.1038/s41598-017-12404-5.
19. Trickler W.J., Lantz S.M., Murdock R. C., Schrand A. M., Robinson B. L., Newport G. D., Schlager J. J., Oldenburg S. J., Paule M. G., Slikker W. Jr., Hussain S. M., Ali S. F. Brain microvessel endothelial cells responses to gold nanoparticles: In vitro pro-inflammatory mediators and permeability. *Nanotoxicology.* 2011; 5(4):479–492.
20. Afeseh Ngwa H., Kanthasamy A., Gu Y., Fang N., Anantharam V., Kanthasamy A. G. Manganese nanoparticle activates mitochondrial dependent apoptotic signaling and autophagy in dopaminergic neuronal cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011;256(3):227–240.
21. Brun E., Carriere M., Mabondzo A. In vitro evidence of dysregulation of blood-brain barrier function after acute and repeated/long-term exposure to TiO(2) nanoparticles. *Biomaterials.* 2012; 33(3):886–896.
22. Yu K.N., Yoon T.J., Minai-Tehrani A. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. *Toxicol. In Vitro.* 2013;27(4):1187–1195.
23. Huerta-Garcia E., Perez-Arizti J.A., Marquez-Ramirez S.G. Titanium dioxide nanoparticles induce strong oxidative stress and mitochondrial damage in glial cells. *Free Radical Biol. Med.* 2014; 73: 84–94.
24. Tobe E.H. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and major depressive disorder. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 2013; 9: 567–573.
25. Brieger K., Schiavone S., Miller F.J., Krause K.H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med. Wkly.* 2012; 142: 13659.
26. Zhang L., Bai R., Liu Y., Meng L., Li B., Wang L., Xu L., Le Guyader L., Chen C. The dose-dependent toxicological effects and potential perturbation on the neurotransmitter secretion in brain following intranasal instillation of copper nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2012; 6(5): 562–575.
27. Ressler K.J., Nemeroff C.B. Role of serotonergic

28. Tamminga C.A. The neurobiological of cognition in schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 2006; 67:9-13.
29. Cui Y., Chen X., Zhou Z., Lei Y., Ma M., Cao R., Sun T., Xu J., Huo M., Cao R., Wen C., Che Y. Prenatal exposure to nanoparticulate titanium dioxide enhances depressive-like behaviors in adult rats. *Chemosphere*. 2014; 96:99–104.
30. Шарафутдинова Л.А., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. Исследование эмбриотоксического действия наночастиц диоксида титана на крыс Морфологические ведомости. 2017; 25(3): 37-42.
- and noradrenergic systems in the pathophysiology of depression and anxiety disorders. *Depress Anxiety*. 2000; 12(Suppl 1):2–19
28. Tamminga C.A. The neurobiological of cognition in schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 2006; 67:9-13.
29. Cui Y., Chen X., Zhou Z., Lei Y., Ma M., Cao R., Sun T., Xu J., Huo M., Cao R., Wen C., Che Y. Prenatal exposure to nanoparticulate titanium dioxide enhances depressive-like behaviors in adult rats. *Chemosphere*. 2014;96:99–104.
30. Sharafutdinova L.A., Khismatullina Z.R., Daminov M.R., Valiullin V.V. The study of embryotoxic effect of titanium dioxide nanoparticles on rats. [Issledovanie `embriotoksicheskogo dejstvija nanochastits dioksida titana na krysy]. *Morphological Newsletter [Morfologicheskie Vedomosti]*. 2017; Sep 30;25(3):37-42. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.17\(25\).03.37-42](https://doi.org/10.20340/mv-mn.17(25).03.37-42) (in Russ)

Авторы

Шарафутдинова Люция Ахтямовна
к.б.н., доцент кафедры физиологии и общей биологии
биологического факультета
sharafla@yandex.ru

Федорова Альбина Мубараковна
к.б.н., доцент кафедры физиологии и общей биологии
биологического факультета
marmishka-06@mail.ru

Синельников Кирилл Николаевич
Магистрант биологического факультета
sharafla@yandex.ru

Башкатов Сергей Александрович
д.б.н., профессор, декан биологического факультета
s_bashkatov@list.ru

Башкирский государственный университет
Российская Федерация, 450076, Приволжский федеральный округ, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Заки Валиди, дом 32

Валиуллин Виктор Владимирович
Казанский государственный медицинский университет
Доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии
Российская Федерация, 420012, Приволжский федеральный округ, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, 49
valvv@kcn.ru

Authors

Lucia A. Sharafutdinova
Cand.Sci. (Bio), Associate Professor of the Department of Physiology and General Biology of the Faculty of Biology
sharafla@yandex.ru

Albina M. Fedorova
Cand.Sci. (Bio), Associate Professor of the Department of Physiology and General Biology of the Faculty of Biology
marmishka-06@mail.ru

Kirill N. Sinelnikov
Master of Biology Faculty
sikirax@gmail.com

Sergey A. Bashkatov
Dr. Sci. (Bio), Professor, Dean of Biological Faculty
s_bashkatov@list.ru

Bashkir State University
Russian Federation, 450076, Privolzhsky Federal District, Republic of Bashkortostan, Ufa, Zaki Validi Street 32

Viktor V. Valiullin
Kazan Medical University
Dr. Sci. (Bio), Professor of the Department of Histology
Doctor of Biological Sciences, professor of the Department of Histology
Russian Federation, 420012, Privolzhsky Federal District, Republic of Tatarstan, Kazan, Butlerova Street, 49
valvv@kcn.ru