

УДК 612.821

Н.А. Кривова<sup>1</sup>, М.Ю. Ходанович<sup>1</sup>, Т.А. Замошина<sup>2</sup>, **Р.Т. Тухватулин<sup>1</sup>**,  
О.Б. Заева<sup>1</sup>, Д.Я. Суханов<sup>1</sup>, А.Е. Зеленская<sup>2</sup>, Е.В. Гуль<sup>2</sup>, А.В. Микрюкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Томского государственного университета» (г. Томск)

<sup>2</sup>Биологический институт Томского государственного университета (г. Томск)

## ВЛИЯНИЕ ДИОКСИДА ТИТАНА НА НЕКОТОРЫЕ ФУНКЦИИ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. (ГК № П1260 от 27.08.2009 г., ГК № П1058 от 31.09.2010 г., ГК № 14.740.11.0183 от 15.09.2010 г.).

*Для оценки характера нейротропных воздействий диоксида титана (TiO)<sub>2</sub> в виде частиц 12 и 175 нм проведено исследование на крысах, которым в течение 7 дней скармливали фиксированную дозу TiO<sub>2</sub> (250 мг/кг) с привлекательным кормом. Установлено, что TiO<sub>2</sub> в микродисперсной форме понижал чувствительность к стрессу и агрессивность, но повышал общую двигательную активность, спектральные мощности основных диапазонов ритмов электроэнцефалограммы крыс, в то время как нанодисперсная его форма продемонстрировала в основном противоположные результаты воздействия на центральную нервную систему животных.*

**Ключевые слова:** диоксид титана; наночастицы; микрочастицы; поведение; крысы.

### Введение

В настоящее время большое внимание уделяется перспективам развития нанотехнологий, т.е. технологий направленного создания и использования веществ и материалов в диапазоне размеров до 100 нанометров. Достижения в развитии нанотехнологий будут связаны с тесным контактом человека с наноматериалами, поэтому изучение потенциальных рисков их использования представляется первостепенной задачей [1, 2]. Одной из таких задач является изучение биологического воздействия наночастиц на живые системы и их влияние на здоровье человека. Для оценки эффектов наноматериалов важны их физико-химические свойства [3]. Такие характеристики наноразмерных частиц, как размер и форма, площадь удельной поверхности, химический состав, вносят, вероятно, наибольший вклад в их биологическую активность [4, 5].

Наночастицы диоксида титана в настоящее время являются одними из наиболее распространенных наночастиц, широко используемых в различных областях. Они применяются для повышения потребительских качеств бумаги, красок, керамики, пищевых продуктов и т.п. Разрабатываются новые направления применения наночастиц TiO<sub>2</sub> в других областях – например, использование высоких концентраций аэрозоля наночастиц TiO<sub>2</sub> для быстрого очищения воздуха в модели катастрофы химических токсичных паров [6].

Диоксид титана считается биологически инертным в микроразмерном состоянии. Однако степень его биологической инертности в наноразмерном состоянии мало изучена. По-видимому, физико-химические характеристики частиц влияют на прохождение барьеров организма, их распределение, накопление и выведение из организма. Многочисленные исследования описывают неоднозначные последствия воздействия  $TiO_2$ . Продемонстрировано развитие цитотоксичности, общей токсичности для организма в целом или отдельных систем [7–10], или отсутствие токсичности, или очень незначительная токсичность [11, 12].

Известно, что нервная система наиболее чувствительна к разного рода воздействиям. Поведенческие реакции используются для проведения экологических, фармакологических, нейрофизиологических, генетических и эволюционных исследований [13], и в настоящее время наблюдается расширение сферы их применения как тестирующих систем [14].

Целью настоящего исследования явилось изучение в эксперименте особенностей нейротропных эффектов наночастиц диоксида титана.

### Материалы и методики исследования

Исследование проводили в октябре 2010 г. на половозрелых крысах-самцах аутбредного стока Wistar разведения питомника НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск) с исходной массой тела 160–180 г. Животные содержались в группах по 10 особей в пластмассовых клетках в отдельном отсеке вивария при одинаковом температурном режиме (20–22°C), на стандартном пищевом рационе вивария, при световом режиме СТ12:12 (освещение с 8.00 до 20.00 ч), 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. После 10-дневной адаптации к условиям местного вивария и карантина из 80 крыс с помощью теста «открытое поле» [15] выделялось 28–30 особей со сходным типом нервной системы – сбалансированными процессами возбуждения и торможения (средние показатели двигательной активности за 5 мин наблюдения).

Из отобранных животных формировалось 3 группы: контрольная и 2 опытные, получавшие в течение 7 сут в утренние часы в составе привлекательного корма наночастицы  $TiO_2$ . Исследовали влияние  $TiO_2$  в виде порошков двух степеней дисперсности: нанодисперсный (12 нм) и микродисперсный (175 нм) в дозе 250 мг/кг массы тела. Процедура кормления крыс диоксидом титана состояла в следующем: ежедневно в 10 часов утра животных рассаживали в одноместные клетки и предлагали им порошок  $TiO_2$ , завернутый в привлекательный корм (блинчик площадью около 20 см<sup>2</sup>). Животные контрольной серии получали только привлекательный корм. После того, как каждая крыса полностью съедала предложенную порцию, ее возвращали в соответствующую общую клетку. Вне периода кормления диоксидом титана животные получали стандартный гранулированный корм и воду по потребности.

После окончания опытов (через 24 ч после последнего кормления порошками диоксида титана) все крысы были вновь протестированы в «открытом поле».

При тестировании в «открытом поле» регистрировали следующие показатели: латентный период выхода из центрального квадрата, горизонтальная двигательная активность, вертикальная двигательная активность, норковый рефлекс, дефекации (индекс эмоциональности) [15]. Общую двигательную активность подсчитывали как сумму горизонтальной, вертикальной активностей и числа заглядываний в норку.

В течение эксперимента проводилась круглосуточная видеосъемка поведения животных в группах с помощью камеры Axis 221 (Швеция). Видеофайлы сохранялись и в дальнейшем анализировались с помощью программы «Mouse Express», автоматически оценивающей двигательную активность в условных единицах по принципу покадровой оценки изменения изображения [16]. Кроме того, визуально при просмотре видеофайлов оценивали количество межиндивидуальных контактов агрессивного характера каждый час.

За сутки до и через сутки после эксперимента регистрировали электроэнцефалограмму (ЭЭГ) у крыс с помощью подкожных игольчатых электродов [17]. Каждый электрод представлял собой иглу из нержавеющей стали (длина 12 мм, диаметр 0,6 мм). Внутри иглы располагалась золотая проволока (регистрирующая часть электрода, диаметр 0,4 мм), покрытая лаковой изоляцией. При регистрации ЭЭГ ненаркотизированную крысу фиксировали, вводили подкожно два регистрирующих электрода в области левого и правого полушария теменной части головы и референтный электрод в области носовой кости, а также фиксировали серебряные клипсовые мини-электроды (земляной и дополнительный, для контроля артефактов) на левой передней лапе и правой задней лапе животного. Для лучшего контакта с кожей для клипсовых миниэлектродов использовали электродный гель «Униагель». ЭЭГ регистрировали монополярно при помощи 24-канального электроэнцефалографа «Энцефалан-131-03» («Медиком МТД», г. Таганрог) в частотном диапазоне от 0,16 до 70 Гц. Частота дискретизации составила 250 Гц. Применялся запирающий фильтр, вырезающий 50 Гц колебания, связанные с сетевой наводкой. ЭЭГ регистрировали в двух режимах: 1) исходная ЭЭГ в течение 30 с; 2) звуковая стимуляция: частые стандартные (1000 Гц, 80 дБ) и редкие девиантные (500 Гц, 80 дБ) стимулы с вероятностью предъявления 80 и 20%. Звуковой стимулятор располагался на расстоянии 20 см от головы крысы с правой стороны.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе StatSoft Statistica 6.0. При типировании крыс на группы по особенностям нервной системы использовали кластерный анализ, метод К-средних. Спектральный анализ ЭЭГ проводили при помощи программного обеспечения «Энцефалан». Статистическая значимость различий исследуемых показателей оценивалась с использованием непараметрического критерия парных сравнений Вилкоксона и критерия Колмагорова–Смирнова с уровнем значимости  $p < 0,05$  [18].

### Результаты исследования и обсуждение

Нейротропное действие нанодисперсного и микродисперсного диоксида титана исследовалось с помощью тестирования крыс в «открытом поле», изучения суточной динамики покоя–активности животных и анализа количества межиндивидуальных контактов агрессивного характера в течение суток и в динамике эксперимента.

Тестирование животных в «открытом поле» проводилось до и после эксперимента, т.е. через 7 сут, в течение которых опытные группы получали диоксид титана разной степени дисперсности. Известно, что первое предъявление «открытого поля» является для крыс сильным стрессорирующим фактором, к которому в последующих предъявлениях развивается привыкание [15]. И действительно, в наших экспериментах (табл. 1) в контрольной и в обеих опытных группах животных при повторном предъявлении теста, т.е. через неделю, наблюдалось небольшое понижение горизонтальной активности, которое, однако, оказалось недостоверным. При этом остальные виды активностей существенно не изменялись ни в контрольной группе, ни в группе, получавшей наночастицы. Исключение представляли животные, которым скармливали микрочастицы диоксида титана. В этой группе отмечалось достоверное понижение в 1,8 раза вертикальной активности ( $p < 0,05$ ) и в 3,5 раза ( $p < 0,05$ ) – индекса эмоциональности.

Следует подчеркнуть, что на фоне описанных выше изменений двигательных компонент латентный период выхода крыс из центрального квадрата в контрольной группе увеличивался более чем в 10 раз, в то время как в обеих опытных группах – только в 2–3 раза, причем у животных, получавших микрочастицы, эти изменения оказались недостоверными.

В целом полученные результаты свидетельствуют не только об отсутствии явления привыкания, как у контрольных крыс, так и получавших нанодисперсный порошок диоксида титана, но и о сохранении и даже повышении уровня тревожности и страха в этих группах, на что указывает рост латентного периода выхода из центрального квадрата [14, 19–21]. Противоположные результаты обнаружены нами на крысах, получавших микродисперсный порошок диоксида титана. В этой группе на фоне понижения вертикальной активности снизился индекс эмоциональности, а остальные компоненты поведения не изменились, в том числе и латентный период выхода животных из центрального квадрата. Очевидно, семидневное назначение диоксида титана в виде микродисперсной формы способствовало развитию явления привыкания в тесте «открытое поле» в отличие от групп сравнения.

Таким образом, в группе крыс, получавших микродисперсный порошок диоксида титана, к концу эксперимента поведение крыс становилось более спокойным ввиду того, что процессы возбуждения, очевидно, были сбалансированы процессами торможения, в то время как у контрольных и получавших наноформу они были менее сбалансированными. Очевидно, у контрольных животных и получавших наночастицы диоксида титана стрессированность в условиях теста «открытое поле» после 7 сут эксперимента не только сохранялась, но даже усиливалась, в то время как у крыс, получавших микродисперсную форму диоксида титана, она уменьшалась.

Таблица 1

## Показатели теста «открытое поле» у контрольных крыс (n = 10) и крыс, получавших нано- (n = 10) и микродисперсный (n = 10) диоксид титана

Показатель поведенческой активности в «открытом поле»	Точка регистрации ЭЭГ	Группа крыс		
		Контроль	Нанодисперсный TiO <sub>2</sub>	Микродисперсный TiO <sub>2</sub>
Латентный период выхода из центра	Исходные данные	1,60±0,27	2,10±0,5	2,2±0,59
	После эксперимента	17,20±9,41*	6,6±1,79*	4,9±1,77
Горизонтальный компонент	Исходные данные	33,1±6,04	25,1±5,11	29,9±4,17
	После эксперимента	32,7±6,04	20,4±3,52	25,0±5,67
Норковый компонент	Исходные данные	1,2±0,51	0,5±0,31	1,2±0,7
	После эксперимента	2,1±0,59	1,1±0,9	1,7±0,54
Вертикальный компонент	Исходные данные	14,1±2,04	8,9±1,21	14,9±1,36
	После эксперимента	10,8±2,6	9,3±2,2	8,5±2,41*
Эмоциональный компонент	Исходные данные	3,1±1,37	3,2±1,29	4,5±1,45
	После эксперимента	1,2±0,42	2,3±0,76	1,2±0,42*
Груминг	Исходные данные	3,3±0,97	3,3±1,19	3,1±0,6
	После эксперимента	2,6±0,72	4,3±1,13	3,9±1,34
Общая двигательная активность	Исходные данные	48,4±0,72	34,5±6,34	46,0±4,61
	После эксперимента	45,6±8,86	30,8±5,76	35,2±8,37

\* Статистически значимые различия между показателями до (исходные данные) и после эксперимента, критерий Вилкоксона ( $p < 0,05$ ).

Состояние центральной нервной системы оценивали также по суточной динамике покоя–активности, а также обобщенной суточной активности крыс в жилой клетке в динамике эксперимента, т.е. на протяжении 7 сут введения нано- и микродисперсных порошков диоксида титана.

Анализ суточной динамики двигательной активности показал три её пика для всех групп крыс (рис. 1). Первый пик наблюдали в 10–11 ч (время кормления), второй приходился на 6 ч утра (восход солнца) и третий – на 20–22 ч вечера (после заката солнца), что подтверждает наблюдения других исследователей [22].

Выявлено статистически значимое понижение активности группы крыс, получавших нанодисперсный порошок TiO<sub>2</sub>, по сравнению с контрольной группой в 7 временных точках, которые приходились на утренние часы и послеобеденное время. Кроме того, в 5 временных точках (ночные часы) двигательная активность крыс, получавших микродисперсный порошок TiO<sub>2</sub>, была достоверно выше двигательной активности крыс контрольной группы и в 11 временных точках (равномерно по суткам) – выше активности группы «нано».

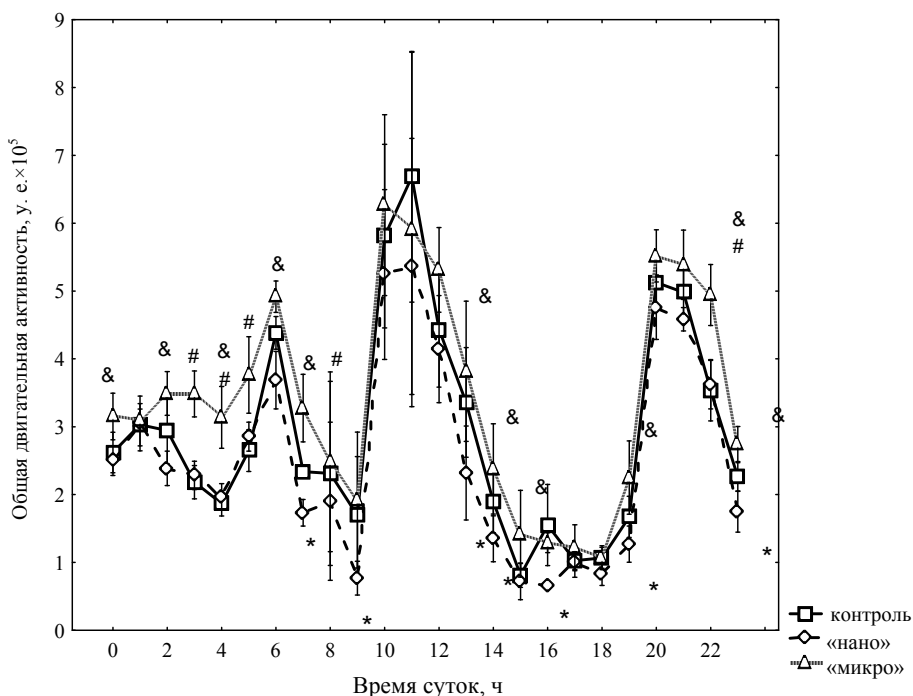


Рис. 1. Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на суточную динамику общей двигательной активности крыс в жилой клетке. Здесь и далее отмечены статистически значимые различия между группами ( $p < 0,05$ ): \* – между группой «нано» и контролем; & – между группой «микро» и контролем; # – между группами «нано» и «микро»

Аналогичная картина наблюдалась и в динамике эксперимента (рис. 2). Отмечалось достоверное повышение двигательной активности группы крыс, получавшей микродисперсный порошок, по сравнению с контрольной группой на протяжении всего эксперимента. Кроме того, на 2–4-е сут эксперимента группа крыс, получавших наноформу, была значительно менее активна, чем контрольная группа и группа, получавшая микродисперсный порошок.

Таким образом, анализ результатов суточной динамики двигательной активности крыс и в течение эксперимента, в целом, подтвердил данные, полученные нами на тех же крысах в тесте «открытое поле». Крысы, получавшие микродисперсный порошок диоксида титана, в силу меньшей чувствительности к стрессу оказались самыми активными. Показатели их активности были статистически значимо выше, чем в контрольной группе, и особенно в группе, получавшей нанодисперсный порошок.

Кроме того, с помощью этого метода удалось разделить контрольную группу животных и группу, получавшую наноформу диоксида титана. Суточное мониторирование активности позволило оценить последнюю группу как наиболее пассивную по сравнению как с контрольной, так и получавшей микродисперсную форму диоксида титана.

Учитывая результаты теста «открытое поле», такой тип поведения следует рассматривать не как более спокойный, а как более депрессивный, что, видимо, связано с большей чувствительностью этой группы к стрессу [20].

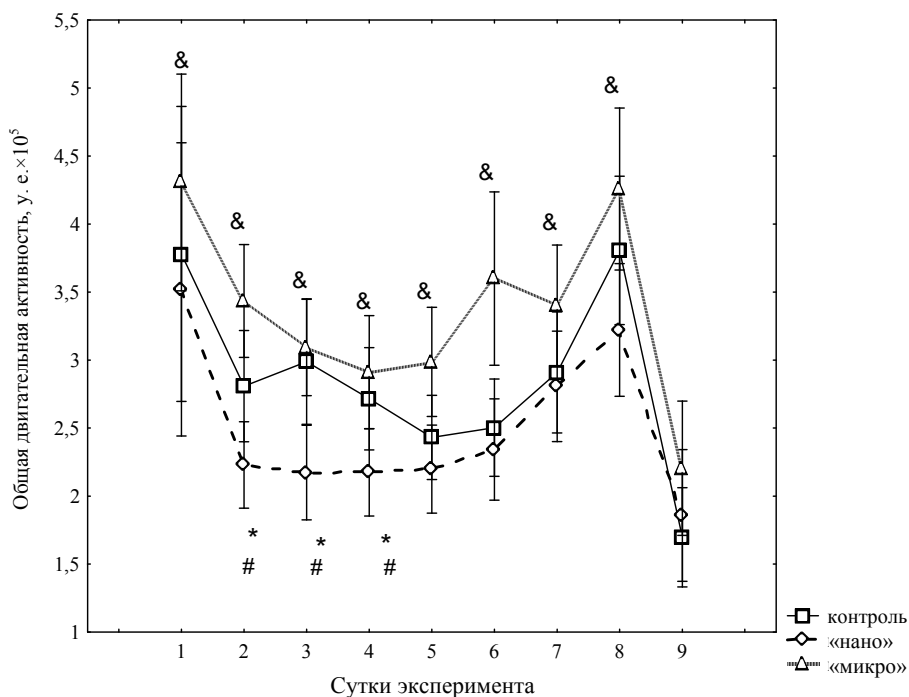


Рис. 2. Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на общую двигательную активность крыс в динамике эксперимента

Визуальный контроль поведения животных включал анализ их агрессивности. Для того чтобы исключить возможность возникновения «стадного инстинкта» в агрессивных актах крыс в условиях скученности (клетки всех трех групп животных находились под видеоконтролем рядом друг с другом), был проведен предварительно следующий тест.

Детально проанализирован 1 ч наибольшей активности и агрессивности крыс (3 ч ночи, 2-е сут эксперимента). Во время просмотра для каждой группы фиксировали число межиндивидуальных взаимодействий, начало и конец каждой драки с точностью до секунды. Затем был проведен анализ на совпадение во времени межиндивидуальных взаимодействий. В группе контроля было зафиксировано 9 межиндивидуальных взаимодействий, и только 5 из них перекрывались с драками крыс в соседних клетках. В группе крыс, получавших микродисперсный порошок, отмечено 26 драк, и только 6 из них перекрывались с драками животных в других группах. В группе крыс, получавших нанодисперсный порошок, было зафиксировано 44 драки, и 11 из них совпадали по времени с драками животных соседних клеток. Таким образом, были получены данные, свидетельствующие о том, что на

число актов межиндивидуальных взаимодействий крыс слабо влияют количество драк животных в соседних клетках.

Анализ суточной динамики общего количества межиндивидуальных взаимодействий агрессивного характера показал, что в 3 ч ночи число взаимодействий в группе животных, получавших микродисперсный диоксид титана, было ниже, чем в группе, получавшей наноформу (рис. 3), но в сравнении с контролем достоверных отличий не обнаружено. Далее было установлено, что аналогичная ситуация наблюдалась и для суточной динамики длительных межиндивидуальных контактов. В 0 ч число длительных взаимодействий в группе «микро» было ниже, чем в контроле ( $p < 0,05$ ), а в 3 ч ночи – ниже, чем в группе «нано» ( $p < 0,05$ ) (рис. 4). Следовательно, животные, получавшие микродисперсную форму диоксида титана, в период максимально выраженной двигательной активности проявили меньшую склонность к межиндивидуальным взаимодействиям, в том числе и агрессивного характера, чем крысы контрольной группы и группы, получавшей наноформу.

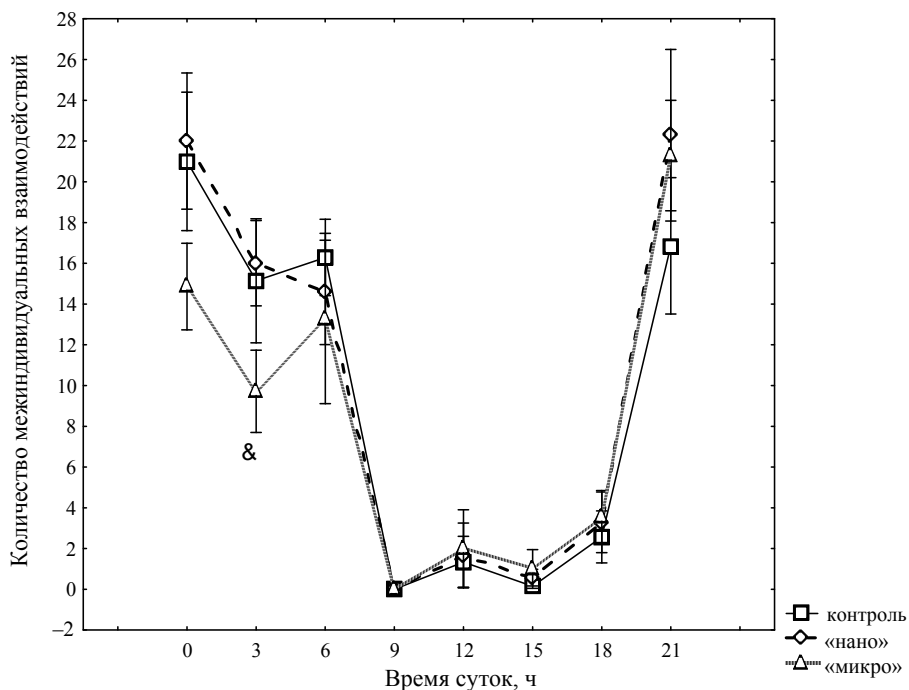


Рис. 3. Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на суточную динамику общего количества межиндивидуальных взаимодействий



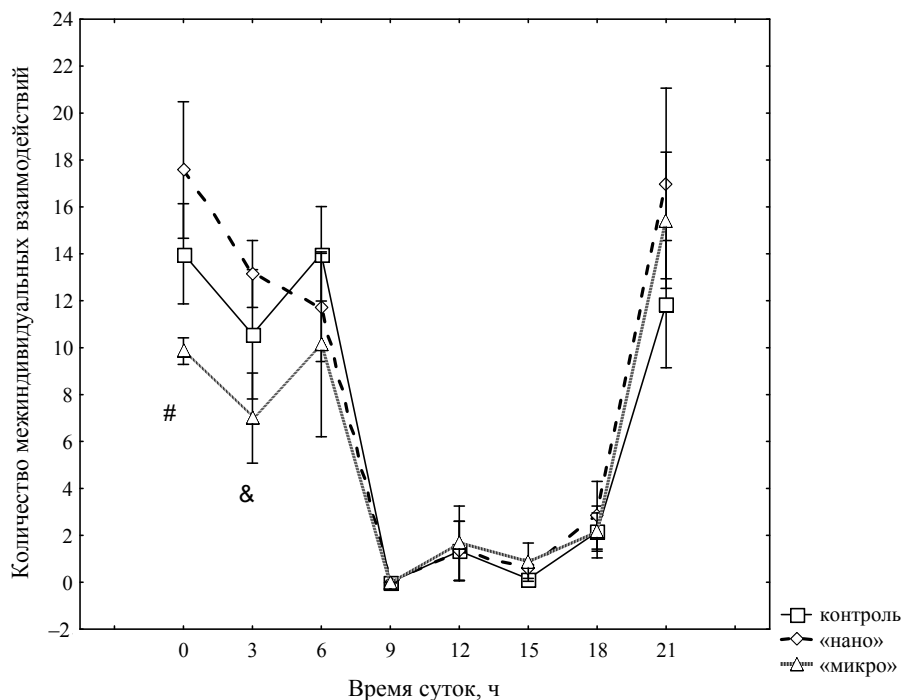


Рис. 4. Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на суточную динамику длительных межиндивидуальных взаимодействий

Таким образом, в этой серии наблюдений поведение контрольной группы животных и группы, получавшей нанодисперсный порошок, мало отличалось, в то время как поведение крыс, получавших микродисперсную форму, существенно модифицировалось. Крысы этой группы проявили большую двигательную активность, но меньше взаимодействовали друг с другом. Вероятно, это свидетельствует о повышении немотивированной, неспецифической активности, связанной с повышением общего уровня возбудимости нервной системы в этой группе животных. Это предположение в дальнейшем подтвердилось при анализе изменения спектра мощности ЭЭГ.

Зарегистрированная в этой же серии экспериментов электроэнцефалограмма, отражающая суммарную биоэлектрическую активность клеток зрительной коры у крыс, позволила оценить возможность воздействия диоксида титана разной степени дисперсности на процессы возбуждения и торможения в центральной нервной системе. В этой серии изучали влияние диоксида титана на спектральные характеристики электроэнцефалограммы в покое и при сенсорной нагрузке. Проведен сравнительный анализ спектров мощности ЭЭГ контрольных животных и крыс, получавших микро- и нанодисперсные порошки диоксида титана. Абсолютные значения мощности основных ритмов ЭЭГ до и после эксперимента в режимах покоя и стимуляции представлены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

## Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на мощность основных ритмов ЭЭГ крыс в режиме покоя

Ритм ЭЭГ		Группа крыс					
		Контроль		Нанодисперсный TiO <sub>2</sub>		Микродисперсный TiO <sub>2</sub>	
		До эксперимента	После эксперимента	До эксперимента	После эксперимента	До эксперимента	После эксперимента
Левое полушарие мозга	Тета, мкВ <sup>2</sup> (4–8 Гц)	122,11 ± 48,0	67,35 ± 16,11#	155,48 ± 35,96	106,35 ± 22,59	169,98 ± 46,2	136,19 ± 16,31#
	Альфа, мкВ <sup>2</sup> (8–13 Гц)	30,93 ± 9,89	13,45 ± 2,44#	35,44 ± 4,61	20,87 ± 3,49	34,45 ± 4,43	35,32 ± 5,37#
	Бета, мкВ <sup>2</sup> (13–24 Гц)	33,06 ± 9,75	17,05 ± 3,12#	41,12 ± 6,28	28,45 ± 4,27	34,23 ± 3,5	40,02 ± 5,63#
	Гамма <sub>1</sub> , мкВ <sup>2</sup> (25–49 Гц)	10,58 ± 2,95	6,80 ± 0,85#	16,82 ± 4,14	10,76 ± 1,42	11,05 ± 0,79	14,26 ± 2,42#
	Гамма <sub>2</sub> , мкВ <sup>2</sup> (51–70 Гц)	10,95 ± 2,84	8,72 ± 1,59	16,11 ± 4,86	13,97 ± 1,44	17,62 ± 5,22	20,51 ± 8,71
Правое полушарие мозга	Тета, мкВ <sup>2</sup> (4–8 Гц)	127,06 ± 33,47	109,82 ± 28,17	182,13 ± 46,71	101,73 ± 19,58	140,84 ± 37,42	119,52 ± 18,10
	Альфа, мкВ <sup>2</sup> (8–13 Гц)	35,44 ± 5,81	24,82 ± 5,82	38,80 ± 4,36	22,35 ± 3,55&	29,36 ± 4,40	35,49 ± 5,08&
	Бета, мкВ <sup>2</sup> (13–24 Гц)	32,57 ± 4,09	23,22 ± 5,04#	42,83 ± 5,17&	26,21 ± 3,25&	28,06 ± 3,73&	42,54 ± 5,82* & #
	Гамма <sub>1</sub> , мкВ <sup>2</sup> (25–49 Гц)	11,82 ± 1,41	10,59 ± 1,93	13,70 ± 1,20	11,48 ± 1,35	10,90 ± 1,07	16,80 ± 2,65*
	Гамма <sub>2</sub> , мкВ <sup>2</sup> (51–70 Гц)	18,74 ± 5,47	11,31 ± 1,78	22,87 ± 6,95	12,97 ± 1,67	16,82 ± 2,57	32,74 ± 15,60

Примечание. \* –  $p < 0,05$  между показателями до и после эксперимента (критерий Вилкоксона); & –  $p < 0,05$  между группами, получавшими нано- и микродисперсный порошок (критерий Манна–Уитни); # –  $p < 0,05$  между контролем и группой, получавшей микродисперсный порошок (критерий Манна–Уитни).

В результате проведенного анализа удалось установить, что значения мощностей основных ритмов ЭЭГ крыс контрольной группы до и после эксперимента не отличались как в покое, так и при стимуляции. В то же время у животных, получавших нано- и микродисперсные порошки диоксида титана, наблюдались разнонаправленные изменения мощностей основных ритмов ЭЭГ по сравнению с исходными значениями этого показателя до эксперимента.

Так, у крыс, получавших микродисперсный порошок, после эксперимента наблюдались увеличение мощности ЭЭГ в бета- и гамма<sub>1</sub>-диапазонах в режиме покоя (табл. 2) и повышение мощности ритмов ЭЭГ в тета-, альфа-, бета- и гамма<sub>1</sub>-диапазонах в режиме стимуляции (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние диоксида титана разной степени дисперсности на мощность основных ритмов ЭЭГ крыс в режиме стимуляции**

Ритм ЭЭГ		Группа крыс					
		Контроль		Нанодисперсный TiO <sub>2</sub>		Микродисперсный TiO <sub>2</sub>	
		До эксперимента	После эксперимента	До эксперимента	После эксперимента	До эксперимента	После эксперимента
Левое полушарие мозга	Тета, мкВ <sup>2</sup> (4–8 Гц)	79,66± 29,71	64,69± 14,33#	153,29± 46,86	68,74± 11,98&	109,31± 25,83	126,94± 16,60&#
	Альфа, мкВ <sup>2</sup> (8–13 Гц)	23,35± 8,26	14,27± 2,31#	30,69±6,07	18,32± 3,16&	36,05± 8,85	46,48± 8,59&#
	Бета, мкВ <sup>2</sup> (13–24 Гц)	26,05± 8,21	17,89± 2,78#	32,38±5,73	22,91± 3,01&	31,96± 5,20	42,67± 6,00&#
	Гамма <sub>1</sub> , мкВ <sup>2</sup> (25–49 Гц)	8,73± 2,58	7,11± 1,03#	13,38±2,42	10,25±1,43	9,91± 1,17	15,96± 2,74#
	Гамма <sub>2</sub> , мкВ <sup>2</sup> (51–70 Гц)	7,35± 1,50#	8,34± 1,51	16,27±6,03	12,72±1,43	18,55± 6,13#	15,46±4,60
Правое полушарие мозга	Тета, мкВ <sup>2</sup> (4–8 Гц)	94,90± 22,47	87,42± 21,99#	188,56± 62,96	74,39± 10,05&	91,42± 12,67	139,62± 17,59*&#
	Альфа, мкВ <sup>2</sup> (8–13 Гц)	25,47± 4,30	22,33± 4,15#	37,18±7,15	22,18± 3,79*&	28,43± 5,42	49,64± 7,80*&#
	Бета, мкВ <sup>2</sup> (13–24 Гц)	27,81± 4,60	25,26± 5,08#	37,39±6,19	22,32± 2,05*&	27,77± 3,23	45,44± 4,94*&#
	Гамма <sub>1</sub> , мкВ <sup>2</sup> (25–49 Гц)	9,68± 1,62	10,87± 1,99#	11,65±1,31	10,07± 1,04&	10,48± 0,97	17,29± 2,33*&#
	Гамма <sub>2</sub> , мкВ <sup>2</sup> (51–70 Гц)	12,42± 3,79	10,16± 1,40	14,77±3,52	11,17±1,93	14,62± 2,36	24,46± 10,60

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$  между показателями до и после эксперимента (критерий Вилкоксона); & –  $p < 0,05$  между группами, получавшими нано- и микродисперсный порошок (критерий Манна–Уитни); # –  $p < 0,05$  между контролем и группой, получавшей микродисперсный порошок (критерий Манна–Уитни).

У крыс, получавших нанодисперсный порошок, напротив, наблюдалось уменьшение мощности ритмов ЭЭГ в тета-, альфа-, бета- и гамма<sub>1</sub>-диапазонах в режиме стимуляции (табл. 3).

Следует подчеркнуть, что указанные изменения мощностей ритмов ЭЭГ крыс, получавших нано- и микродисперсные порошки диоксида титана, наблюдались главным образом в правом полушарии.

Проанализированы также изменения относительных мощностей основных ЭЭГ ритмов. Межгрупповое сравнение показало, что исходные значения для различных групп в режиме покоя не отличались между собой, в то время как после эксперимента для группы крыс, получавших диоксид титана в микродисперсной форме, обнаружено достоверное увеличение относительной мощности в тета-, альфа-, бета- и гамма<sub>1</sub>-диапазонах и уменьшение в дельта-диапазоне

( $p < 0,05$ ) по сравнению как с контролем, так и с группой «нано». Указанные изменения были более выражены для правого полушария. В режиме стимуляции наблюдались сходные изменения: увеличение относительной мощности дельта-ритма и уменьшение мощности тета-, альфа- и бета-ритмов в правом полушарии по сравнению с обеими группами сравнения ( $p < 0,05$ ). Сравнение относительных мощностей ритмов до и после эксперимента также показало, что наиболее существенные изменения наблюдаются для группы крыс, получавших микродисперсный порошок. Изменения, как в режиме покоя, так и при стимуляции, связаны с увеличением относительной мощности в тета-, гамма<sub>1</sub>- и гамма<sub>2</sub>-диапазонах и уменьшением в дельта-диапазоне в правом полушарии ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, микродисперсный диоксид титана вызвал сдвиг спектра ЭЭГ в сторону более высокочастотных ритмов и, следовательно, повышение уровня активации [23]. Для группы крыс, получавших нанодисперсный порошок, наблюдались менее выраженные изменения как относительно контроля, так и относительно исходных значений до эксперимента. В режиме покоя изменения группы «нано» относительно контроля связаны со снижением мощности в альфа- и бета-диапазонах, в режиме стимуляции – с увеличением мощности в дельта-диапазоне и снижением в тета-, альфа- и бета-диапазонах. Указанные изменения зарегистрированы в левом полушарии. Следовательно, нанодисперсный диоксид титана вызывает противоположные изменения – сдвиг спектра мощности ЭЭГ в сторону низкочастотных ритмов и снижение уровня активации [23].

Таким образом, у крыс, получавших нано- и микродисперсные порошки диоксида титана, удалось выявить разнонаправленные изменения мощности основных ритмов ЭЭГ по сравнению с теми же показателями до эксперимента. Как свидетельствуют полученные результаты, обнаруженные изменения локализованы главным образом в правом полушарии. Следует заметить, что достоверные различия мощностей исследуемых ритмов по отношению к аналогичным показателям контрольных животных наблюдались только у крыс, получавших микродисперсную форму диоксида титана. У этих крыс мощности всех ритмов ЭЭГ на всех режимах были увеличены. Такое неспецифическое увеличение мощности во всех диапазонах может свидетельствовать о формировании в мозге животных под влиянием микродисперсного диоксида титана нового уровня функциональной активности. Это становление осуществляется, очевидно, через активацию как процессов возбуждения, так и торможения [23].

Серия ЭЭГ-экспериментов подтвердила выраженное нейротропное действие диоксида титана как в нано-, так и в микродисперсных формах. Судя по нашим результатам, это действие не однонаправленное, а скорее разнонаправленное. Микродисперсная форма, очевидно, усиливает как процессы возбуждения, так и торможения, а вторая – процессы торможения в нервной системе, что соответственным образом, т.е. разнонаправленно, отражается на различных формах поведения.

### Заключение

Проведенные исследования нейротропной активности диоксида титана в микро- и нанодисперсных формах показали, что в дозе 250 мг/кг это соединение

при введении внутрь в организм крыс в течение 7 сут оказывало выраженное нейротропное действие в тесте «открытое поле» при суточном мониторинговании общей активности и агрессивного поведения, а также в ЭЭГ-исследованиях. В микродисперсной форме диоксид титана повышал общую двигательную активность, спектральные мощности основных диапазонов ритмов ЭЭГ крыс, снижая при этом чувствительность животных к стрессу и их агрессивность, в то время как нанодисперсная его форма, напротив, понижала общую двигательную активность и спектральные мощности основных диапазонов ритмов ЭЭГ, не влияя на агрессивное поведение и чувствительность к стрессу.

### Литература

1. Owen R., Depledge M. Nanotechnology and the environment: Risks and rewards // *Marine Pollution Bulletin*. 2005. Vol. 50, № 6. P. 609–612.
2. Salomon M. Risks of synthetic nanomaterials for human health // *Umweltmedizin in Forschung und Praxis*. 2009. Vol. 14, № 1. P. 7–22.
3. Jones C.F., Grainger D.W. In vitro assessments of nanomaterial toxicity // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009. Vol. 61. P. 438–456.
4. Yamamoto A., Honma R., Sumita M., Hanawa T. Cytotoxicity evaluation of ceramic particles of different sizes and shapes // *J. Biomed. Mater. Res.* 2004. Part A. Vol. 68A, № 2. P. 244–256.
5. Karlsson H.L., Gustafsson J., Cronholm P., Möller L. Size-dependent toxicity of metal oxide particles – A comparison between nano- and micrometer size // *Toxicology Letters*. 2004. Vol. 188, № 2. P. 112–118.
6. Besov A.S., Krivova N.A., Vorontsov A.V., Zaeva O.B. et al. Air detoxification with nanosize TiO<sub>2</sub> aerosol tested on mice // *Journal of Hazardous Materials*. 2010. Vol. 173. P. 40–46.
7. Afaq F., Abidi P., Matin R. et al. Cytotoxicity, pro-oxidant effects and antioxidant depletion in rat lung alveolar macrophages exposed to ultrafine titanium dioxide // *Toxicology*. 1998. Vol. 18. P. 307–312.
8. Warheit D.B., Webb T.R., Sayes C.M. et al. Pulmonary instillation studies with nanoscale TiO<sub>2</sub> rods and dots in rats: toxicity is not dependent upon size and surface area // *Toxicological Sciences*. 2006. Vol. 91, № 1. P. 227–236.
9. Wang J.J., Sanderson B.J.S., Wang H. Cyto- and genotoxicity of ultrafine TiO<sub>2</sub> particles in cultured human lymphoblastoid cells // *Mutation Research*. 2007. Vol. 628. P. 99–106.
10. Zhang R., Niu Y., Li Y., Zhao C. et al. Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2010. Vol. 30, № 1. P. 52–60.
11. Fabian E., Landsiedel R., Ma-Hock L. et al. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats // *Archives of Toxicology*. 2008. Vol. 82, № 3. P. 151–157.
12. Liao C.-M., Chiang Y.-H., Chio C.-P. Assessing the airborne titanium dioxide nanoparticle-related exposure hazard at workplace // *Journal of Hazardous Materials*. 2009. Vol. 162, № 1. P. 57–65.
13. Dewsbury D.A. *Comparative Animal Behavior*. N.Y.: McGraw-Hill, 1978. 452 p.
14. Кокаева Ф.Ф. Поведение как критерий поражающего действия техногенных загрязнителей среды на организм животных и эффективности мер коррекции: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2006. 32 с.
15. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.
16. Суханов Д.Я., Кривова Н.А., Ходанович М.Ю. Рекламно-техническое описание. Программа оценки двигательной активности крыс в ограниченном прямоугольном пространстве по цифровому видеозображению «Mouse Express». Свидетельство ОФЕР-НиО № 15873 от 16.06.2010. Томск, 2010. 5 с.

17. Rotenberg A., Muller P., Birnbaum D. et al. Seizure suppression by EEG-guided repetitive transcranial magnetic stimulation in the rat // *Clinical Neurophysiology*. 2008. Vol. 119. P. 2697–2702.
18. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
19. Симонов П.В. Эмоциональный мозг. М.: Наука, 1981. 215 с.
20. Лоскутова Л.В., Дубровина Н.И. ГАМК<sub>B</sub>-рецепторы и амнезия мышей с альтернативными стереотипами поведения // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2007. № 3. С. 10–12.
21. Амикишева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // *Информационный вестник Всероссийского общества генетиков и селекционеров*. 2009. Т. 13, № 3. С. 529–542.
22. Замощина Т.А. Лития оксидбутират и ритмическая структура активно-поискового поведения и температуры тела крыс в постоянных условиях освещения // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2000. № 2. С. 12–15.
23. Ливанов М.Н. Пространственная организация процессов головного мозга. М.: Наука, 1972. 181 с.

Поступила в редакцию 15.02.2011 г.

Natalia A. Krivova<sup>1</sup>, Marina Ju. Khodanovich<sup>1</sup>, Tatiana A. Zamoshchina<sup>2</sup>,  
Ravil T. Tuhvatulin<sup>1</sup>, Olga B. Zueva<sup>1</sup>, Dmitry J. Suhanov<sup>1</sup>, Anna E. Zelenskaja<sup>2</sup>,  
Elizaveta V. Gul<sup>2</sup>, Anna V. Mikrjukova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Biology and Biophysics of Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Biological Institute of Tomsk State University, Tomsk, Russia

#### THE INFLUENCE OF THE TITANIUM DIOXIDE ON SOME FUNCTIONS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM

*The perspective of developing technology of creating and using the nanomaterials (particle size up to 100 na-nometers) attracts a big attention nowadays. Nanoparticles of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) are counted among the most widely used nanoparticles. They are used for paper, paint, ceramics, food, medicines and cosmetic consumer quality refinement. Microsize titanium dioxide is considered as biologically inactive but action degree of nanosize titanium dioxide remains unclear. It is known for animal nervous system to be the most respondent to different exposures. The aim of present research was estimating of neurotropic influence of nanosize titanium dioxide. To perform this an experiment on rats was conducted. Rats were receiving a piece of attractive food with addition of fixed dose of nanosize TiO<sub>2</sub> (250 mg/kg) for 7 days.*

*Before and after experiment behavioral activity of rats was tested in "open field" (number of squares crossed, vertical exploratory activity, head dipping, defecation and urination, center square duration). Circadian rhythm of the total locomotion activity of rats and dynamics of the locomotion activity during the whole experiment was carried out using the day-night camera Axis 221. In addition, spectral analysis of EEG was performed. EEG was recorded in the parietal cortex in unanesthetized rats using 24-channel electroencephalograph "Entsefalan-131-03" (Medicom MTD", Taganrog) in the frequency range from 0,16 to 70 Hz. It was found that microsize and nanosize TiO<sub>2</sub> is expressed the neurotropic effect. The microsize TiO<sub>2</sub> increases the total motor activity, the spectral power of the main bands of the EEG rhythms of rats, but reduces the animal's sensibility to stress and aggressive behavior. Dioxide, in contrast, reduces the total motor activity, spectral power of the main bands of the EEG rhythms without affecting the aggressive behavior of animals and sensitivity to stress.*

**Key words:** titanium dioxide; nanoparticles; microparticles; behaviour; rats.

Received February 15, 2011