

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100163>

Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор. Часть 3. Влияние наночастиц на мозг и поведение. Выводы и нерешённые проблемы

А.Л. Ивлиева¹, И. Зиньковская², Е.Н. Петрицкая¹, Д.А. Рогаткин¹¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация;² Объединённый институт ядерных исследований, Дубна, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

В заключительной части обзора рассматриваются существующие методики и результаты исследования влияния наночастиц (НЧ) на мозг и поведение. Описаны типы поведенческих тестов, применяемых для оценки изменений в поведении получавших НЧ животных. Рассмотрены накопленные в литературе данные о негативном влиянии НЧ на мозг животных, контактировавших с НЧ во взрослом возрасте. Приведены описанные в работах признаки развития в мозге окислительного стресса, воспаления и отёчности, нарушения структуры клеток и возрастания проницаемости гематоэнцефалического барьера. Охарактеризованы обнаруженные при различных способах и длительности контакта животных с НЧ нарушения пространственной памяти, рабочей и долговременной референтной памяти, снижение склонности к социальным взаимодействиям, угнетение исследовательского поведения, проявления депрессии и тревожности, нарушения двигательной координации. Также описаны накопленные сведения о негативных последствиях пренатального и раннего постнатального (например, во время лактации) контакта с НЧ для повзрослевшего потомства. В мозге молодых животных обнаружены угнетение пролиферации клеток, увеличение количества претерпевающих апоптоз клеток, отёки и дегенерация сосудов, снижение экспрессии генов, связанных с нейрогенезом, и многочисленные признаки развития окислительного стресса. Рассмотрены нарушения поведения у взрослых животных после контакта с НЧ в раннем онтогенезе, такие как проявления депрессивного поведения или повышенная тревожность, угнетение пространственной и кратковременной памяти. Приведены также противоречивые результаты исследований после контакта с НЧ как во взрослом возрасте, так и в раннем онтогенезе. В заключении освещены нерешённые вопросы и даны общие выводы по обзору.

Ключевые слова: наночастицы; токсичность; производство наночастиц; мозг; поведение; развитие.

Как цитировать:

Ивлиева А.Л., Зиньковская И., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А. Наночастицы и наноматериалы — неизбежные современные токсичные агенты. Обзор. Часть 3. Влияние наночастиц на мозг и поведение. Выводы и нерешённые проблемы // Экология человека. 2022. Т. 29, № 4. С. 223–239. DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100163>

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100163>

Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 3. Influence of nanoparticles on brain and behavior. Conclusions and unsolved problems

Alexandra L. Ivlieva¹, Inga Zinicovscaia², Elena N. Petritskaya¹, Dmitriy A. Rogatkin¹

¹ Moscow regional research and clinical institute named after M.F. Vladimirovsky, Moscow, Russian Federation;

² Joint Institute for nuclear research, Dubna, Russian Federation

ABSTRACT

The final part of the review focuses on the existing methods and results of studying the effects of nanoparticles (NPs) on the brain and behavior. The types of behavioral tests used to assess changes in the behavior of NP-treated animals are described. The data accumulated in the literature on the negative influence of NPs on animal brains exposed to NPs in adulthood are considered. The signs of different cellular and tissue damage are presented, such as development of oxidative stress in the brain, inflammation and swelling, disturbances in the structure of cells, and an increase in the permeability of the blood–brain barrier. Disturbances in spatial memory, working, and long-term reference memory, decreased propensity for social interactions, inhibition of exploratory behavior, depression and anxiety, and impaired motor coordination, were found after various types and duration of contact of animals with NPs. The accumulated information about the negative consequences of prenatal and early postnatal, during lactation, for example, contact with NPs for mature offspring, is also described. Various cellular and tissue damage is found in the brain of young animals, such as the inhibition of cell proliferation, an increase in the number of cells undergoing apoptosis, edema and vascular degeneration, a decrease in the expression of genes associated with neurogenesis, and numerous signs of the development of oxidative stress. Behavioral disturbances in adult animals that had contact with NPs in early ontogenesis are considered, such as manifestations of depressive behavior or increased anxiety and suppression of spatial and short-term memory. Contradictory results of studies about contact with NPs in both adulthood and early ontogenesis are also presented. In conclusion, unresolved issues are highlighted, and general conclusions on the review are given.

Keywords: nanoparticles; toxicity; production of nanoparticles; brain; behavior; development.

To cite this article:

Ivlieva AL, Zinicovscaia I, Petritskaya EN, Rogatkin DA. Nanoparticles and nanomaterials as inevitable modern toxic agents. Review. Part 3. Influence of nanoparticles on brain and behavior. Conclusions and unsolved problems. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2022;29(4):223–239.

DOI: <https://doi.org/10.17816/humeco100163>

Received: 25.10.2021

Accepted: 24.02.2022

Published: 27.06.2022

5. ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА МОЗГ И ПОВЕДЕНИЕ

5.1. Типы поведенческих тестов для грызунов в исследованиях

Специализированных поведенческих тестов для оценки влияния наночастиц (НЧ) на мозг и поведение животных по результатам анализа литературы не выявлено. При изучении влияния НЧ на поведение мелких грызунов в исследованиях применяют широкий спектр известных поведенческих тестов, в том числе из состава рекомендованных для работ в сфере психофармакологии [1] и/или в соответствии с руководствами по тестированию химических веществ, составленными международной Организацией экономического сотрудничества и развития [2]. Тем не менее, по нашему мнению, имеет смысл (в методологическом плане) осветить в данном обзоре ключевые тесты и методику работы с ними, чтобы более чётко представлять, как получены те или иные результаты оценки функций головного мозга животных. Исследователь выбирает тип поведенческого теста в зависимости от того, на какую именно функцию мозга будет рассмотрено влияние исследуемого вещества. Во время экспериментов проводят видеосъёмку и по видеозаписи выявляют искомые элементы поведения, определённый набор которых характерен для каждого типа теста.

Среди тестов для изучения когнитивных способностей животных популярен водный лабиринт Морриса (Morris water maze), который позволяет оценить способность животного к пространственной ориентации, формирование пространственной памяти и её гибкость [3–10]. Существует много модификаций водного лабиринта Морриса для изучения разных аспектов пространственной ориентации и памяти, в том числе рабочей памяти, т.е. способности к накоплению информации о пространстве тестовой установки во время предыдущего тестирования и к применению накопленных сведений в последующих тестах [11].

В исследованиях по токсичности НЧ рабочую пространственную память часто изучают и в Y-лабиринте (Y-maze) [12, 13]. Более сложную задачу ставит восьмирукавный радиальный лабиринт (Radial arm maze) — инструмент для оценивания как кратковременной рабочей, так и долговременной пространственной памяти [12, 14]. Относительно прост и быстр в выполнении тест на распознавание нового объекта (Novel object recognition test). Особенности поведения грызуна в тесте «открытое поле» (Open field test) отражают эмоционально-поведенческую реактивность животного, в том числе уровень тревожности и выраженность исследовательского поведения [5, 15–17].

Тесты на уровень тревожности основаны на создании животным условий переменной стрессогенности. В этих условиях грызун сам может выбрать себе более

комфортные условия. Это приподнятый крестообразный лабиринт (Elevated plus maze) [16, 18–22], тёмно-светлая камера (Light-dark box, или Light-dark transition test) и построенный на её основе тест пассивного избегания (Passive avoidance test) [6, 17]. Тест вынужденного плавания (Forced swim test) позволяет выявить признаки депрессивного поведения [15, 21, 23].

При изучении влияния НЧ на мозговые функции также оценивают разные показатели, связанные с двигательной активностью животного. Общая локомоторная активность может быть оценена в оснащённой инфракрасными фоторецепторами прозрачной камере или, чаще, в открытом поле. Нарушения балансировки и двигательной координации, ослабление тонуса мускулатуры или атаксию выявляют в тесте с вращающимся стержнем (Rotarod performance test) [7, 16]. У мышей общий уровень мышечной координации проверяют в тесте виса на проволоке (Wire hang test) и в тесте с вертикальным стержнем (Vertical pole test) [24].

Наконец, среди сравнительно редко применяемых, но дополняющих картину поведенческих нарушений под влиянием НЧ следует указать тест социального взаимодействия (Social interaction test) и тест условного (павловского) страха (Contextual fear conditioning test). В тесте социального взаимодействия тестируемому животному, сидящему в одной из двух соединённых камер, предъявляют незнакомого собрата, помещаемого в свободную камеру в проволочной клетке (чтобы ограничить его подвижность): интактный грызун больше времени проводит в камере с новоприбывшим [7, 25]. Выработка страха в ответ на условный стимул проходит в специальной камере: экспериментальные животные после некоторого времени, отведённого им на свободное обследование установки, подвергаются негативному безусловному стимулу (звук, вспышка, удар тока). Выбатывается условный страх в ответ на повторное помещение животного в камеру, проявляемый впоследствии и при отсутствии безусловного раздражителя. О нарушениях формирования контекстуальной памяти при приёме НЧ свидетельствует отсутствие выработки или угасание условного рефлекса [18]. Могут быть также рассмотрены возможные нарушения памяти на модели оперантного научения [26].

5.2. Последствия контакта с наночастицами для мозга взрослых животных

В настоящее время имеется достаточно данных о негативном влиянии НЧ на когнитивные способности взрослых животных. Например, в работе [27] через месяц после однократного введения взрослым крысам НЧ серебра размером 20 нм в расчёте 10 мг/кг массы тела или НЧ TiO₂ размером 21 нм в расчёте 5 мг/кг массы тела в мозге животных были оценены уровни экспрессии генов белков-антиоксидантов и белков-компонентов ренин-ангиотензиновой системы (чтобы оценить её уязвимость перед окислительным стрессом, вызванным НЧ),

активность или содержание этих белков, уровень окисления липидов (содержание в образце веществ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой) и общий антиоксидантный статус. В мозге получавших НЧ серебра животных был снижен уровень окисления липидов, повышена активность антиоксидантных белков супероксиддисмутазы и глутатион-редуктазы с одновременным снижением уровня экспрессии их генов. Вместе с тем содержание белков ренин-ангиотензиновой системы при изменённом уровне экспрессии их генов осталось неизменным. В присутствии НЧ TiO_2 были изменены и содержание, и уровень экспрессии генов белков ренин-ангиотензиновой системы. Снизилась активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Одна из функций эстрогенов — антиоксидантная: в группе получавших НЧ TiO_2 животных оказалась сниженной экспрессия гена ароматазы (фермента, катализирующего образование эстрогенов из предшественников андрогенов). Таким образом, оба вида НЧ вызывали окислительный стресс в мозге, но разными путями, и TiO_2 был более значимым модулятором генной экспрессии, чем серебро, даже при вдвое меньшей дозировке.

Последствия повторяющегося контакта с НЧ серебра размером 20 нм (0,25; 0,5 или 1 мг/кг интраперитонеально 1 раз в день 9 дней подряд) рассмотрены в работе H. Moradi-Sardareh с соавт. [28]. На гистологических срезах мозга экспериментальных мышей были обнаружены области отёка в нейропиле. Кроме того, с увеличением дозы НЧ наблюдались все более отчётливые нарушения формы астроцитов, более выраженными становились нарушения формы мозговых капилляров и области отёчности, прилежащие к ним. Отмечено дозозависимое увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), которое авторы определили по количеству содержащегося в мозге введённого в кровеносное русло красителя — голубого Эванса — в группах, получавших 0,5 и 1 мг/кг НЧ серебра.

Проницаемость ГЭБ для НЧ серебра размерами 20–30 или 50–60 нм (50 мг/кг массы тела в день интраперитонеально 7 дней подряд) и дополнительный стрессирующий фактор в виде лишения глубокого сна были оценены в работе [29]. Экспериментальных крыс подвергли лишению глубокого сна в специальной установке «перевернутый цветочный горшок». Животное помещали на 12–72 ч с доступом к еде и питью на платформу, расположенную чуть выше уровня воды в тестовой камере. Крыса могла погрузиться в медленный сон (третья фаза сна), но стоило ей перейти в фазу быстрого сна (paradoxical sleep, REM-фаза), как из-за расслабления тела животное падало с платформы в воду и просыпалось. Области мозга, где барьер был ослаблен, визуализировали по распространению голубого Эванса, а о степени проницаемости ГЭБ судили по помеченным радиоактивной меткой белкам из кровеносного русла: сравнивали уровень радиации в образцах мозга с уровнем радиации в образцах крови. Обнаружено, что чем дольше животное было лишено глубокого сна,

тем выше была проницаемость ГЭБ как для красителя, так и для переносимой с белками радиоактивной метки. Краситель обнаружили в таламусе и гипоталамусе, мозжечке, гиппокампе, хвостом ядре, теменной, затылочной, височной, поясной коре больших полушарий, в стволе мозга и на стенках мозговых желудочков, что свидетельствует о нарушении барьера как между кровью и мозговой тканью, так и между кровью и цереброспинальной жидкостью. Наибольшие уровни радиации наблюдали в мозге после 48 ч лишения глубокого сна.

В работах [30–34] преодоление ГЭБ и накопление НЧ золота в головном мозге отмечено после их внутривенного и ингаляционного введения. В целом в мозге накапливалось небольшое по сравнению с другими внутренними органами (почками, печенью и др.) количество золота, а экспериментальные животные по виду и поведению не отличались от контроля. Так, U. Lee с соавт. [35] ввели крысам в правое полушарие мозга суспензии НЧ золота двух разных размеров — 5 или 100 нм. В обоих случаях при иммуногистохимическом окрашивании срезов мозга во всех зонах коры больших полушарий было выявлено заметное количество клеток, экспрессировавших белок-маркёр нестин, который вырабатывается астроцитами в ответ на повреждение ЦНС, причём все эти клетки также экспрессировали белок-маркёр астроцитов GFAP. Отмечается, что на срезах мозга животных, контактировавших с более мелкими НЧ, количество окрашенных клеток было значительно выше, чем у крыс после контакта с более крупными НЧ.

Для изучения токсичности НЧ TiO_2 I. Grissa с соавт. [36] смоделировали длительный (в течение 8 нед) ежедневный контакт взрослых крыс с НЧ TiO_2 размером 5–12 нм (анатаз) в дозах 50, 100 и 200 мг/кг массы тела интрагастрально. В мозге были выявлены признаки окислительного стресса: снизилась активность белков-антиоксидантов (супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы), снизился общий антиоксидантный статус и возрос уровень окисления липидов. Все эти изменения имели дозозависимый характер. Возросло также содержание TNF- α — маркера воспаления, что могло быть обусловлено и окислительным стрессом, и увеличением содержания NO как медиатора воспаления. На гистологических срезах мозга животных из групп, получавших 100 и 200 мг НЧ на 1 кг массы тела, были обнаружены патологические изменения: заметная инфильтрация лимфоцитов в ткани, отёк тканей и застой крови в сосудах, пролиферация глиальных клеток (в ответ на воспаление), некроз клеток и изменение формы нейронов. У животных этих же групп значительно возросла доля отмирающих нейронов в коре головного мозга: на 25 и 55% соответственно по сравнению с контролем.

Z. Heidari с соавт. в работе [24] рассмотрели влияние длительного хронического (45 дней) контакта мышей с НЧ TiO_2 размером 10 нм (анатаз) на дофаминэргические нейроны чёрной субстанции и на моторику. Животные

интрагастрально получали 10, 25 или 50 мг/кг НЧ в день. Затем у них отслеживали нарушения моторных функций с помощью теста с вертикальным стержнем и теста виса на проволоке. Группе мышей, получавших 50 мг/кг НЧ в день, понадобилось статистически значимо больше времени, чтобы занять вертикальное положение носом вниз на стержне. Кроме того, у них и у мышей, получавших 25 мг/кг НЧ в день, получилось провисеть на проволоке статистически значимо меньше времени, чем у всех остальных. По сравнению с контролем у экспериментальных животных было снижено количество дофаминэргических нейронов (положительных при окрашивании на тирозингидроксилазу) в чёрной субстанции и повышено содержание так называемых тёмных нейронов — значимо повреждённых нейронов, сильно окрашиваемых ацидофильными красителями (толуидиновым синим).

В исследовании [19] после острого повторяющегося (каждые 2 дня в течение 20 дней) контакта с 20 мг/кг НЧ TiO_2 размером 20–30 нм (анатаз), введённых интраперитонеально, у экспериментальных крыс гистологических нарушений в мозге обнаружено не было, хотя проявилась повышенная тревожность: животные значимо больше времени проводили в закрытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта.

Н.А. Кривова с соавт. [37] сравнили влияние НЧ TiO_2 двух размеров (12 и 175 нм) на тревожность, агрессивность и электрическую активность мозга крыс. До начала эксперимента из общей выборки крыс, прошедших первый раз тест «открытое поле», отобрали тех, у кого примерно в равной степени были выражены процессы возбуждения и торможения согласно показателям двигательной активности в тесте. Далее отобранным животным с помощью подкожных электродов сняли электроэнцефалограмму (ЭЭГ). Затем, спустя сутки, каждый день в течение недели крысам скормливали с едой НЧ TiO_2 в виде порошка, а по окончании недели, опять спустя сутки, второй раз протестировали в тесте «открытое поле» и вновь сняли ЭЭГ. Выраженные изменения в поведении были обнаружены у группы крыс, получавших НЧ размером 175 нм. У них значимо снизились вертикальная активность и эмоциональная компонента. Однако у них же единственных незначимо возрос латентный период до выхода из центра арены на периферию, служащий показателем страха и тревоги, а у животных, получавших НЧ размером 12 нм, и у группы контроля латентный период возрос в 2–3 и 10 раз соответственно. Кроме того, у крыс, получавших НЧ размером 175 нм, была статистически значимо увеличена двигательная активность по сравнению с таковой у контрольной группы — как в открытом поле, так и суточная, в то время как у животных, получавших НЧ размером 12 нм, активность была снижена по сравнению с контролем. Однако крысы, получавшие НЧ размером 175 нм, несмотря на повышенную активность, оказались менее склонны к межиндивидуальным взаимодействиям, включая агрессию, чем животные из двух других групп.

Это свидетельствовало об увеличении у этих крыс немотивированной, неспецифической активности, связанной с повышением общей возбудимости нервной системы, что было подтверждено ЭЭГ: произошёл сдвиг спектра ЭЭГ-сигнала и относительно покоя (измерения до приёма НЧ), и относительно контроля в сторону более высокочастотных ритмов, следствием чего стало повышение уровня активации. В то же время у группы, получавшей НЧ размером 12 нм, проявились противоположные изменения: сдвиг спектра сигнала ЭЭГ в сторону низкочастотных ритмов и, как следствие, — снижение уровня активации. Причём указанные изменения были локализованы преимущественно в правом полушарии головного мозга.

Необычный способ введения НЧ TiO_2 размером 50 нм был применён в работе [4]. В течение 30 дней ежедневно анестезированным крысам наносили суспензию на всю поверхность языка и через 1 ч экспозиции промывали ротовую полость водой. Таким образом, НЧ в этом эксперименте проникали в мозг через проводящие пути вкусового анализатора. Экспериментальные животные тратили статистически значимо больше времени на достижение платформы в водном лабиринте Морриса во время научения и меньше времени проводили в месте прежнего расположения платформы после её перемещения. На срезах коры головного мозга и гиппокампа экспериментальных крыс были обнаружены изменения структуры — менее плотное расположение клеток в тканях.

Исследование влияния хронического контакта с НЧ TiO_2 размером 7 нм (анатаз) на рабочую пространственную память и гиппокамп описано в работе [13]. В течение 60 дней ежедневно мыши интрагастрально получали НЧ в количестве 5, 10 или 50 мг/кг массы тела. Контрольные животные и особи из группы 5 мг/кг провели статистически значимо больше времени в незнакомом им рукаве Y-лабиринта, чем в двух ранее знакомых им рукавах, но экспериментальные мыши из двух оставшихся групп проявляли не больше интереса к новому рукаву, чем к стартовому. Авторы трактуют это поведение как признак нарушения распознавания мышами окружающего пространства, однако отказ от подробного знакомства с новой обстановкой также может быть проявлением депрессивного поведения. В группах с дозами НЧ 10 и 50 мг/кг в гиппокампе были заметно выражены признаки апоптоза в нейронах: морфологические изменения (уменьшение ядра, сморщенная ядерная мембрана, разупорядочивание хроматина), фрагментация ДНК. У всех экспериментальных животных возросли уровни экспрессии генов регуляторных белков каспазы-9 и каспазы-3, были значительно угнетены и экспрессия гена, и активность регулятора (ингибитора) апоптоза Bcl-2, увеличилась экспрессия генов проапоптотического регулятора Вах и цитохрома С. Было также установлено развитие окислительного стресса: резко возросло содержание супероксид-аниона O_2^- и перекиси водорода в гиппокампе, снизилась активность белковых (супероксиддисмутазы,

каталазы, глутатионпероксидазы плазмы, аскорбатпероксидазы) и небелковых (ацетилсалициловой кислоты) антиоксидантов.

Е.-М. Kim с соавт. [26] исследовали влияние НЧ TiO₂ размером 9 нм на краткосрочную (через 2 ч) и долговременную (7 дней) память после разового введения крысам суспензии НЧ (10 мкл, концентрация 2 мг/мл) в мозговую желудочек через канюлю. Перед имплантацией канюли животные прошли оперантное научение в камере с двумя рычагами, при нажатии на один из которых крыса получала пищевую награду. Как только крысы освоили нажатие на рычаги, им была предъявлена тестовая задача: теперь еду выдавали только при определённом количестве последовательных нажатий на один конкретный рычаг. Какой рычаг был правильным — чередовалось, и требуемое количество нажатий менялось после каждого выполнения задачи: в одном цикле тестирования сначала оно нарастало (от 2 до 56), а потом снижалось (от 56 до 2). После семидневного научения животных им вводили канюлю, а спустя неделю после операции вводили НЧ или физиологический раствор. Экспериментальные животные статистически значимо чаще ошибались и в том, когда нужно перейти к другому рычагу, и в том, сколько раз надо нажать на рычаг. Были статистически значимо нарушены и рабочая память, и долговременная референтная память. При этом животные не теряли мотивации получить еду; понимали, что требуемое количество нажатий меняется; у них не было выявлено нарушений локомоции или иных признаков плохого самочувствия. Получается, что нарушения памяти были именно когнитивной природы, не связанные с эмоциональными нарушениями или проблемами в периферической нервной системе.

Л. Hritcu с соавт. [12] проверили кратковременную рабочую память крыс после острого повторяющегося контакта с НЧ серебра (покрытие — полиамидгидроксиуретан, размер — 29 нм; 5 или 10 мг/кг массы тела в день, 7 дней подряд) в Y-лабиринте в варианте с оценкой доли спонтанных альтераций. Обе экспериментальные группы ошибались при выборе рукавов статистически значимо чаще, чем контроль. Схожее нарушение рабочей памяти эти животные продемонстрировали в восьмирукавном лабиринте: особи обеих групп статистически значимо чаще, чем контрольные, повторно заглядывали в те рукава, где раньше еда была, но уже ранее ими была найдена и съедена. Им также понадобилось статистически значимо большее время, чтобы отыскать всю еду в лабиринте. Однако референтная память и долговременное представление о структуре пространства у экспериментальных крыс нарушены не были: животные заходили во всегда пустовавшие рукава не чаще, чем контроль. Кроме того, у получавших НЧ серебра крыс были обнаружены повреждения тканей мозга: отёчные области, деформированные сосуды, клетки с микровакуолями.

Отдельно необходимо отметить исследование А.В. Javurek с коллегами [22], где рассмотрено влияние

на мозг и кишечную микрофлору НЧ серебра одинакового размера (45–50 нм), но разной формы — сферической и кубической. Крысам 14 дней подряд 3 раза в день вводили через желудочный зонд 5 мл раствора НЧ серебра в концентрации 0,2 мг/мл. Не было найдено нарушений плотности расположения нейронов в миндалине. В приподнятом крестообразном лабиринте крысы, получавшие сферические НЧ, статистически значимо чаще, чем получавшие кубические НЧ и контрольные особи, заходили и в закрытые рукава, и в центр установки, и в открытые рукава. Однако это не было связано с увеличением общей двигательной активности: различий в соотношении времени неподвижности и подвижности между группами найдено не было.

В исследованиях, проведённых нашей группой [8, 38–40], изучали на мышах последствия продолжительного (хронического) контакта с НЧ, получаемыми в малых дозах с водой и/или пищей. Такой контакт характерен для работников производств, где изготавливают и применяют НЧ. На протяжении 2 или 4 мес животные получали в качестве питья раствор НЧ серебра (размер — 25 нм; покрытие — PVP) в концентрации 50 или 25 мкг/мл. При потреблении комбикорма одна мышь ежедневно пила в среднем 5 мл жидкости, поэтому суточная доза НЧ на мышь составляла 250 или 125 мкг соответственно. По окончании срока приёма НЧ были оценены в водном лабиринте Морриса способность к научению и пространственная память. Для снижения влияния индивидуальной вариативности по предпочитаемому типу поведения в тесте на сравнение получавших и не получавших НЧ животных общая выборка мышей была рассортирована на три подгруппы согласно продемонстрированному типу поведения [40]. Подгруппу, не проявлявшую исследовательской активности, исключали из дальнейшего анализа, а экспериментальных и контрольных животных сравнивали между собой внутри каждой из двух оставшихся подгрупп. Когда мыши впервые проходили тест Морриса после приёма НЧ, внутри каждой подгруппы и у экспериментальных, и у контрольных особей были выявлены чёткие кривые научения с быстро снижающимися по дням пройденной дистанцией, временем достижения платформы и мерой близости передвижения животного к платформе. Однако после перемещения платформы только контрольные особи из подгруппы без направленного поискового поведения, но не экспериментальные, стали быстрее находить платформу, теперь расположенную ближе к месту запуска мышей в бассейн [39]. О возможном влиянии НЧ могут свидетельствовать и полученные различия в динамике параметров по дням во втором тестировании внутри подгруппы без направленного поискового поведения: к 3-му дню у экспериментальных животных значения всех параметров возросли, а у контроля — незначительно, но снижались. Необходимо также отметить, что влияния фактора пола на прохождение животными теста в наших работах не обнаружено [40].

Исследование со схожей схемой приёма мышами НЧ серебра размером 34 нм (покрытие — PVP) провели A. Antsiferova и соавт. [18]. Животные получали в день 50 мкг НЧ на протяжении 1, 2, 4 или 6 мес, после чего у них оценивали уровень тревожности и эмоциональное состояние. После первых 2 мес приема НЧ у мышей отмечена повышенная тревожность, однако к 4-му месяцу тревожность сменилась на исследовательское поведение, уменьшился страх. После 6 мес выявлены значительные нарушения долговременной памяти, приводившие к возрастанию временных затрат на прохождение тестов из-за необходимости заново и подробно обследовать обстановку. Исследователи трактуют период тревожности и период выраженного исследовательского поведения как две попытки адаптации животных к продолжительному влиянию НЧ на мозг. Если контакт с НЧ длится дольше 4 мес, адаптация проваливается из-за деградации долговременной памяти.

Влияние острого контракта с НЧ серебра (размер — 30–40 нм; покрытие — цитрат; внутривенное введение 2 мг каждому животному 1 раз в неделю 1, 2 или 3 нед подряд) на социальное взаимодействие мышей, а также на их пространственную память и моторику изучали K. Greish с коллегами [7]. Социальное поведение экспериментальных животных статистически значимо отличалось от нормального у контрольной группы: получавшие НЧ мыши предпочитали сидеть в пустой камере, а не знакомиться с новым для них сородичем. В водном лабиринте Морриса контрольные животные демонстрировали типичные кривые научения: время достижения платформы и пройденная дистанция статистически значимо снижались по дням. Однако у экспериментальных животных изменений параметров по дням не наблюдалось, как и различий между параметрами у групп, получавших НЧ в течение 1, 2 и 3 нед. При этом скорость плавания не различалась между группами, т.е. наблюдаемые различия не обуславливались нарушениями локомоции. Более того, мыши из всех трёх экспериментальных групп значимо хуже удерживались на вращающемся стержне по сравнению с контролем, что указывает на нарушение координации движений и балансировки.

В части исследований взрослых животных не обнаружено нарушений у получавших НЧ серебра особей как по биохимии, так и по поведению, хотя НЧ в их мозг проникали. Например, P. Liu и соавт. [9] 7 дней интраперитонеально вводили мышам раствора НЧ серебра в количестве 10, 25 или 50 мг/кг массы тела (размер — 36 нм, без покрытия). При научении в водном тесте Морриса у всех групп статистически значимо снижалось время достижения платформы по дням без заметных различий между группами, включая контрольную. Кроме того, при постановке задачи на рабочую память, когда положение платформы в бассейне каждый день меняют, статистически значимых различий по количеству проведённого в квадранте с платформой времени и времени

достижения платформы не обнаружено, хотя видна некоторая тенденция к снижению первого и увеличению второго параметра в зависимости от получаемой дозы НЧ. По окончании тестирования животным был введён бромдезоксигуанидин, синтетический нуклеотид, который встраивается в реплицируемую ДНК во время S-фазы клеточного цикла и поэтому служит маркером пролиферирующих клеток. Спустя сутки и 28 дней после его введения были взяты образцы мозга, и бромдезоксигуанидин выявлен с помощью иммуногистохимического окрашивания срезов. Большое количество окрашенных клеток обнаружено в зубчатой извилине гиппокампа у всех особей, при этом по степени выживаемости и пролиферации окрашенных клеток различий между группами не найдено. Большая часть окрашенных клеток, как нейронов, так и клеток нейроглии, располагалась в гранулярном слое коры. Соотношение пролиферирующих нейронов и глиальных клеток также не различалось между группами. Таким образом, признаков нарушения вторичного нейрогенеза у получавших НЧ серебра животных в данном исследовании не обнаружено.

Аналогично в работе [16] крысам 14 дней подряд с помощью желудочного зонда вводили 0,2 мг/кг НЧ серебра (размер — 10 нм; покрытие — цитрат) или иона серебра (Ag^+) в день. Ни двигательная активность, ни исследовательское поведение, ни память не были нарушены у получавших как НЧ серебра, так и серебро в виде Ag^+ крыс по сравнению с контрольной группой. Только в приподнятом крестообразном лабиринте у получавших Ag^+ животных были найдены признаки гиперактивности: особи статистически значимо больше времени провели в открытых рукавах, хотя частота заходов в открытые рукава у них ненамного превышала таковую у остальных групп. У получавших серебро в обеих формах особей оказалась замедлена реакция на боль при погружении хвоста в горячую воду, причём у группы Ag^+ значительно заметнее, чем у группы НЧ. Под электронным микроскопом на срезах мозга у всех экспериментальных животных обнаружены патологические изменения структуры миелиновых оболочек — неравномерная толщина и разрывы мембран. С этим согласовывалось снижение уровней содержания трёх специфических для миелина белков, стабилизирующих его структуру: у получавших серебро мышей оно упало до 60–70% такового у контрольной группы, хотя содержание в образцах матричных РНК этих белков, напротив, превышало таковое у контроля на 15–30%. Таким образом, авторы выявили сходство механизмов токсического действия НЧ и Ag^+ по отношению к миелиновым оболочкам, но не обнаружили их влияния на поведение и память.

L.L. Davenport с соавт. [5] ежедневно 7 дней подряд интраназально вводили мышам 50 мг/кг НЧ серебра (40 нм, без покрытия), при этом в тесте на распознавание нового объекта экспериментальные животные не отличались от контрольных. При прохождении животными

теста Морриса различий между группами не обнаружено: все особи одинаково обучались находить платформу. Однако после убирания платформы из бассейна экспериментальные животные провели меньше времени в квадранте, где она раньше располагалась. Авторы предполагают, что от воздействия НЧ пострадала референтная пространственная память, но не была нарушена способность к пространственному научению. В подтверждение этому у получавших НЧ мышей в гиппокампе были повышены уровень экспрессии гена и содержание белка гем-оксигеназы 1, обладающей в том числе противовоспалительным действием и вовлечённой в ответ тканей на окислительный стресс.

Воздействие на мозг животных НЧ золота разного размера изучено Н.А. Khan с коллегами [41]. Мышам интраперитонеально вводили 1 или 2 раза 5 мкг/особь НЧ золота размером 5, 20 или 50 нм и спустя сутки оценивали уровень экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1b, IL-6 и TNF- α в мозге. У животных, получавших НЧ размером 20 и 50 нм, уровни экспрессии цитокинов не были изменены по сравнению с контролем, однако в группе мышей, получавших НЧ размером 5 нм, содержание матричных РНК цитокинов значительно возросло после одной инъекции и далее не менялось после повторного введения НЧ.

Аналогично Г.К. Ferreira с соавт. [42] изучили содержание различных маркёров окислительного стресса в мозге крыс после разового (интраперитонеально, 70 мкг/кг массы тела) или длительного (28 дней, ежедневно) контакта с НЧ золота размером 10 и 30 нм. Авторы обнаружили картину окислительного стресса и угнетения энергетического метаболизма в митохондриях. После разового введения НЧ содержание активных форм, связываемых тиобарбитуровой кислотой (TBARS), уменьшилось в коре головного мозга и гиппокампе. Параллельно снизилась активность каталазы в мозжечке и задней коре. При размере НЧ 10 нм была снижена активность супероксиддисмутазы в стриатуме. После длительного контакта с НЧ содержание TBARS не изменилось по сравнению с контролем, однако активность супероксиддисмутазы и каталазы изменилась в различных областях головного мозга. Как разовый, так и длительный контакт с НЧ не повлияли на активность цитратсинтазы, но ингибировали другие ферменты цикла Кребса и белковые комплексы дыхательной цепи митохондрий.

В работе [43] исследовали влияние НЧ золота на поведение мышей. Для этого 3 дня подряд 1 раз в день интраперитонеально животным вводили суспензии НЧ золота (размер — 5 нм; 2,2 мкг/г массы тела) без покрытия или с покрытием PEG, после чего в тесте «открытое поле» оценили их локомоторную активность и уровень тревожности, а методом пэтч-кламп — электрофизиологические параметры гиппокампальных нейронов из области CA1. Экспериментальные животные не отличались от контрольных по уровню тревожности и не имели

локомоторных нарушений. Однако после контакта с НЧ золота без покрытия статистически значимо участилась генерация потенциалов действия нейронами и снизилась амплитуда потенциалов действия, в то время как у нейронов, выделенных из мозга животных, получавших НЧ золота с PEG, статистически значимых отличий от контроля не наблюдали.

Интересные результаты описаны в исследовании [44]. На крысах смоделировали болезнь Альцгеймера путём введения в мозг бета-амилоидов. Далее животным ввели суспензию НЧ золота (размер — 5 нм, покрытие — цитрат; 1, 10 или 100 мкг/мл): части крыс — интраперитонеально, 4 или 5 дней подряд по одной инъекции в день в расчёте 1 мл/кг массы тела, а остальным — в гиппокампе через канюлю (1 мкл на полушарие). После гистохимического окрашивания срезов гиппокампа тиюфлавином С и по Нисслю у модельных животных были обнаружены как отложения бета-амилоидов, так и значительный уровень дегенерации нейронов. У них также были снижены уровни экспрессии генов белков, связанных с ростом, дифференциацией и выживаемостью нейронов (нейротрофический фактор роста, транскрипционный фактор CREB и его связывающий белок CBP), в том числе регуляторов гомеостаза иона кальция (STIM1, STIM2). У получавших только бета-амилоиды животных были статистически значимо нарушены пространственная память и научение: в водном лабиринте Морриса время достижения платформы и пройденная дистанция только возрастали по дням, а после перемещения платформы крысы мало времени проводили в том квадранте, где она раньше была. При этом обнаруженные нарушения не были обусловлены нарушениями моторной функции. И контрольные крысы, и экспериментальные особи плавали одинаково хорошо. Крысы, получавшие только суспензию НЧ золота любым путём введения, не отличались по научению в тесте Морриса от контрольных собратьев. В их гиппокампе содержание активных форм кислорода и уровень окисления липидов (маркёр — малондиальдегид) были повышены незначительно. Однако по сравнению с особями, которые получали только бета-амилоиды, контактировавшие с НЧ золота модельные крысы быстрее и с прохождением меньшего расстояния обучались находить платформу в бассейне, а также после перемещения платформы больше времени проводили в том квадранте, где она была ранее. В их гиппокампе также были обнаружены меньшая степень дегенерации нейронов и меньше отложений бета-амилоидов, а уровни экспрессии генов всех перечисленных выше белков у этих животных были повышены [44].

К. Ноу с соавт. [45] стабилизировали НЧ золота размером 3,3 нм L- и D-изомерами глутатиона — известного антиоксиданта. Полученные суспензии значительно уменьшали агрегацию бета-амилоидов *in vitro*, а также вдвое увеличивали выживаемость клеток в контактировавшей с бета-амилоидами культуре, будучи в отдельности

нетоксичными для клеток. Сами суспензии были нетоксичными для клеточной культуры (выживаемость клеток — более 80%), и у животных не наблюдалось признаков повреждения тканей и/или воспаления в органах после разового внутривенного введения суспензии в количестве 25 мг/кг массы тела. Содержание золота в мозгу получавших суспензии животных было в 10 раз выше, чем у контроля. Авторами оценено воздействие суспензий НЧ золота, стабилизированных глутатионом (внутривенно 1 раз в неделю, 4 нед подряд, 25 мг/кг массы тела), на когнитивные способности трансгенных мышей, предрасположенных к выработке и накоплению бета-амилоидов. Ничего не получавшие модельные животные заметно хуже выполняли задачу теста Морриса по сравнению с мышами дикого типа. Однако те трансгенные мыши, которым перед тестированием ввели суспензию НЧ золота с D-глутатионом, по времени нахождения платформы, частоте её обнаружения и времени, проведённому в квадранте, где платформа была раньше, приблизились к дикому типу. От введения суспензии с L-глутатионом никакого выраженного эффекта не наблюдали.

5.3. Контакт с наночастицами в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе

Имеются работы по воздействию НЧ и на потомство. Например, в исследовании [46] кормящим крысам внутривенно вводили раствор НЧ серебра размером 20 нм (покрытие — цитрат) в дозе 25 или 100 мг/кг массы тела в течение 21 дня подряд. После этого на гистологических срезах мозга самцов из их потомства обнаружили признаки апоптоза и дегенерацию сосудов, выраженные в группе с более высокой дозой НЧ и спорадические — в группе с меньшей дозой НЧ.

После разовой инъекции раствора НЧ титана размером 100 нм (анатаз) в концентрации 2 мг/мл беременным мышам в мозге плода обнаружены отёки и повышенное количество клеток, претерпевающих апоптоз [47]. В работе [48] мышам-самкам во время беременности интрагастрально вводили НЧ серебра размером 20 нм (покрытие — цитрат) в концентрации 25 мг/кг массы тела ежедневно, начиная с 9-го дня (начало нейруляции у мышей) и до родов. В результате в гиппокампе экспериментальных мышат обнаружено значительное количество клеток с микровакуолями одновременно со сниженными уровнями белкового и небелкового антиоксидантов и повышенным содержанием маркера окисления липидов и активности одного из ферментов, участвующих в регуляции апоптоза (каспазы-9).

В гиппокампе мышат, рождённых от самок, которые ежедневно на протяжении беременности и лактации получали от 1 до 5 мг НЧ титана размером 6,5 нм (анатаз) на 1 кг массы тела, обнаружили угнетение роста дендритов и аксонов вплоть до его отсутствия, а также повышенное содержание свободных кислородных радикалов и увеличение содержания факторов регуляции аутофагии

и апоптоза [49, 50]. Схожие данные были получены в исследовании [51], проведённом по идентичной схеме, только на крысах и с ежедневным получением матерями 100 мг/кг НЧ титана размером менее 100 нм (анатаз): в гиппокампе крысят было снижено содержание одного из белков-маркёров нейрогенеза, но наблюдались повышение количества апоптирующих клеток, увеличение содержания проапоптотических пептидов и уменьшение содержания антиапоптотических белков.

В исследовании Sh. Ghaderi и соавт. [6] рассмотрен вопрос о возможном влиянии контакта с НЧ во время внутриутробного развития, т.е. при потреблении НЧ беременной самкой, на поведение повзрослевшего потомства. Беременным мышам каждые 3 дня вводили подкожно раствор НЧ серебра размером 32 нм (покрытие — цитрат) из расчета 0,2 или 2 мг/кг массы тела и оценивали пространственное научение, реакцию пассивного избегания, уровни стресса, поведенческие признаки тревожности и локомоторной активности у выросшего потомства. Пространственная память была значимо нарушена у животных из группы, матери которых получали бóльшую дозу НЧ. Во все 4 дня научения длина траектории и время достижения платформы значимо превышали таковые как у контроля, так и у группы с меньшей дозой НЧ, а в тесте с перемещением платформы мыши проводили меньше времени и проходили меньшую дистанцию в квадранте, где платформа была расположена ранее (значимо у самцов и самок по отдельности, но незначимо без деления по полам). Получавшие НЧ особи не демонстрировали нарушений в формировании условного рефлекса (тест пассивного избегания). У них не наблюдали признаков тревожного поведения в приподнятом крестообразном лабиринте. В открытом поле и в тёмно-светлой камере экспериментальные животные также не отличались от контрольных по двигательной активности и предпочтению темноты или освещённости, однако число таких поведенческих элементов, как вертикальные стойки и акт дефекации, у них было повышено. Они также совершали меньше переходов между камерами с разной освещённостью.

В нашей работе [3] для моделирования возможного воздействия на детей НЧ серебра из организма матерей, трудящихся на производствах, где применяют НЧ, мышам на протяжении всего срока беременности и лактации давали пить раствор НЧ серебра размером 25 нм (покрытие — PVP) в концентрации 25 мкг/мл. При потреблении одной особью в среднем 5 мл жидкости в день суточная доза НЧ составила 125 мкг на животное. По окончании лактации экспериментальных мышат дорастили до двухмесячного возраста, давая им пить уже чистую воду, а затем оценили их способность к научению и формированию пространственной памяти в водном лабиринте Морриса. Сравнивали между собой, как и ранее, по методике [40] экспериментальных и контрольных мышат внутри каждой из двух групп, проявлявших исследовательскую

активность в лабиринте. Обнаружено, что внутри каждой группы у экспериментальных мышат научения практически не происходило, в то время как контрольные особи хорошо усваивали тестовую задачу: значения параметров траектории движения животных не менялись по дням в экспериментальной группе и значимо снижались у контроля. Подобный результат контрастирует с данными, полученными на животных, которые контактировали с НЧ во взрослом возрасте [8, 38], и может указывать на большую уязвимость областей мозга, связанных с формированием пространственной памяти, для НЧ в пренатальный период из-за незавершённого формирования ГЗБ у плода.

В другом исследовании [20] молодые крысы-самцы, рождённые от самок, которые в последние две недели беременности ежедневно получали интрагастрально 0,8 мг/кг НЧ серебра разного размера с двумя разными покрытиями (цитрат, размер НЧ — 16 нм; полифенолы в составе экстракта бузины чёрной *Sambucus nigra*, размер НЧ — 26 нм), прошли тест «открытое поле» и приподнятый крестообразный лабиринт. В тесте «открытое поле» у обеих групп выявлена гиперактивность по сравнению с контролем и группой, получавшей только экстракт бузины. Самцы из группы НЧ + бузина проявляли наибольшую активность на периферии арены и снижение активности в центральной зоне по сравнению с контролем, т.е. показали признаки повышенной тревожности. В то же время мыши из группы НЧ с цитратом были наиболее активны в центральной зоне арены, причём намного активнее контрольной группы, что рассматривается как признак пониженной эмоциональности. В приподнятом крестообразном лабиринте обе группы по уровню активности (пройденное расстояние, число заходов в рукава) не отличались от контроля, но животные в них избегали нахождения в открытых рукавах. У группы НЧ + бузина предпочтение закрытых рукавов было выражено сильнее, чем у получавших НЧ + цитрат. Таким образом, в этом тесте тревожность была увеличена в обеих экспериментальных группах, но в группе НЧ + бузина — заметнее. Авторы указывают, что противоречащие друг другу оценки уровня тревожности в двух разных тестах могут быть обусловлены разным подходом к оцениванию в рамках различающихся парадигм этих тестов: в приподнятом крестообразном лабиринте подход основан на инстинктивном стремлении грызуна укрыться в убежище, а в тесте «открытое поле» — на стремлении скорее ознакомиться с неизвестной обстановкой.

В исследовании [23] сообщается о выявлении признаков развития депрессивного поведения после пренатального контакта животных с НЧ. Среди потомства мышей, которым каждые 3 дня во время беременности вводили подкожно 0,2 или 2 мг/кг НЧ серебра размером 10 нм (покрытие — цитрат), самцы из обеих групп в тесте вынужденного плавания больше времени проводили, лёжа пассивно на воде, и меньше активно плавали

по сравнению с контролем, а самки из группы получавших большую дозу НЧ, будучи подвешенными за хвост, также больше времени неподвижно висели и мало двигались.

Y. Cui с соавт. [15] с интервалом в 3 дня вводили беременным крысам подкожно 0,5 мг НЧ диоксида титана размером 5 нм (анатаз). В гиппокампе новорождённых был выявлен выраженный окислительный стресс: сниженная активность антиоксидантных белков (каталазы, глутатион-пероксидазы), снижение показателя общей антиоксидантной способности (total antioxidant capability — мера количества свободных радикалов в образце, выявляемого специальным тестовым раствором) и значительное увеличение содержания малондиальдегида (маркёра окисления липидов). Окислительный стресс вызвал заметное повреждение нуклеиновых кислот: содержание окисленного нуклеозида 8-гидроксидезоксигуанозина статистически значимо превышало таковое в образцах контрольных детёнышей. Повзрослевшие крысята проявляли признаки депрессивного поведения: склонность к пассивному удерживанию на воде в тесте вынужденного плавания, а также потерю интереса к предъявленной им подслащённой воде (тест предпочтения сахарозы). У крысят также выявлено нарушение кратковременной памяти: в то время как контрольные особи в тесте на распознавание нового объекта уделяли незнакомому объекту больше внимания, чем знакомому, у экспериментальных животных подобной разницы не было.

Среди других позвоночных нарушения моторной функции, связанные с использованием НЧ серебра, были выявлены G. Zhao с соавт. [52] у молоди данио-рерио. Авторы подвергли эмбрионы данио-рерио контакту с раствором НЧ серебра (покрытие — цитрат) в концентрации 0,4 мг/л, с раствором ионов серебра в концентрации 0,024 мг/л (столько, сколько выделяли 0,4 мг/л НЧ серебра за 16 ч) и с раствором цитрата натрия. Чтобы оценить моторную функцию и вклад мотонейронов в поведение экспериментальных рыб, эмбрионы дважды тронули иголкой: первый раз — на стадии 4 ч после оплодотворения, а второй раз — 96 ч. И контрольные, и контактировавшие с цитратом натрия особи отвечали на прикосновение быстрыми попеременными сокращениями туловища и быстро убегали от точки соприкосновения с иголкой, в то время как подвергшиеся влиянию НЧ рыбы от иглы не уплывали и даже не отодвигались, а демонстрировали только сильные билатеральные сокращения тела или сворачивание в кольцо. Мембранные потенциалы мотонейронов у контактировавших с серебром животных были значимо снижены по сравнению с таковыми у группы цитрата натрия. Выявлено значимое снижение экспрессии связанных с нейрогенезом генов, в том числе отвечающих за регулируемые лигандами ионные каналы, которые участвуют в синаптической трансмиссии, за дофаминэргические сигнальные пути, за дифференциацию мотонейронов. Отмечено также, что уровни экспрессии генов глутаматдекарбоксилазы и белка-энхансера гена

инсулина можно было восстановить путем добавления L-цистеина к эмбрионам в среду одновременно с НЧ, что говорит о влиянии ионов серебра на процесс.

А. Mohammadipour с соавт. [10] ежедневно интрагестрально вводили беременным крысам 100 мг/кг НЧ TiO_2 размером 10 нм (анатаз). Пролиферация клеток в гиппокампе новорождённых была угнетена. У выросших самцов обнаружили значимое ухудшение пространственного научения и памяти. Пройденная дистанция и время достижения платформы у экспериментальной группы были значимо больше, чем у контроля. После перемещения платформы экспериментальные мыши проводили значимо меньше времени в квадранте её предыдущего местоположения, чем контрольные. Воздействие НЧ отразилось в нарушении и краткосрочной, и долговременной памяти (1 и 24/48 ч после негативного стимула) в тесте пассивного избегания. Экспериментальные животные меньше медлили перед тем, как зайти в тёмную камеру, и проводили там больше времени, тогда как до получения негативного стимула различий в поведении между экспериментальными и контрольными особями не наблюдалось.

В эксперименте [21] отмечено нарушение кратковременной памяти у самцов крыс, матери которых были подвергнуты ингаляционному контакту с НЧ TiO_2 (тип структуры не указан, размер — 170 нм) во время беременности: экспериментальные мыши хуже запоминали, что уже заплывали в рукав, где раньше была одна из платформ, и там её не нашли — и потому чаще заходили в тот же рукав сразу повторно. Кроме того, экспериментальные крысы статистически значимо медленнее находили платформу в водном лабиринте Морриса в три из четырёх дней тестирования. Однако, поскольку на четвёртый день время достижения платформы не различалось у контрольных и экспериментальных особей, авторы трактуют результат как проявление проблем с мотивацией к выполнению базовой задачи теста у экспериментальных животных, а не как признак нарушений локомоции или зрения.

Интересно отметить здесь и исследование с оценкой изменений в поведении детёнышей, проведённое на мышатах, получавших НЧ только в раннем постнатальном онтогенезе — с молоком: в начале лактации матерям однократно ввели 1,5 мг/кг НЧ серебра (размеры — 10, 50 или 100 нм; покрытие — цитрат) [53]. У выросших детёнышей не было обнаружено отличий от контрольной группы по степени тревожности, выраженности депрессивного поведения, стремлению к социальным взаимодействиям, а также в батарее тестов на различные аспекты локомоции. Дополнительно было установлено, что у матерей после введения НЧ серебра не наблюдалось патологических изменений в молочной железе и составе молока. Не были повышены уровни маркёров апоптоза, незначительно изменилось содержание клаудина-3 (белка-компонента плотных межклеточных контактов), степень проницаемости гемато-молочного барьера для альбумина и аниона хлора не изменилась.

6. ВЫВОДЫ И НЕРЕШЁННЫЕ ПРОБЛЕМЫ

В представленном обзоре показано, что в большинстве исследований с НЧ серебра, титана и многих других металлов и их оксидов выявляется негативное (токсическое) воздействие НЧ на организм как взрослых животных, так и их потомства. НЧ малого размера, менее 100 нм в диаметре, преодолевают гематоэнцефалический барьер и накапливаются в нейрональной ткани, оказывая деструктивное влияние на многие функции мозга, включая когнитивные. НЧ, преодолевшие плацентарный барьер, проникают в организм детёнышей, что сказывается на развитии потомства. Таким образом, можно констатировать, что сам факт токсического действия НЧ на взрослых животных, включая человека, и на потомство сегодня доказан. Опасность представляет как взаимодействие НЧ с тканевыми и клеточными структурами в любых внутренних органах, особенно в почках, лёгких и печени, так и их проникновение через биологические барьеры, что часто приводит к сбою в работе целых систем организма, например нервной системы, с проявлением выраженных дисфункций головного мозга.

По результатам исследований можно также сделать вывод, что чем химически инертнее сам материал НЧ, тем менее выражен токсический эффект НЧ из этого материала. Наименее токсичным, видимо, оказывается золото, хотя в ряде случаев оно тоже проявляет токсичность, например кардиотоксичность [54]. За золотом следует серебро. В наших почти 10-летних исследованиях с НЧ серебра с покрытием и без такового при хроническом пероральном их потреблении в составе питьевого раствора, заменявшего воду, серьёзного и явно выраженного токсического эффекта мы всё же не наблюдали [40, 55, 56]. При этом суточные дозы НЧ в этих экспериментах были достаточно большими, порядка 2–8 мг/кг массы тела животного, нереальными для человека в любых условиях, если только он специально не будет ежедневно употреблять в пищу такой концентрированный коллоидный раствор НЧ.

Остается ещё очень много нерешённых проблем. Например, до конца не понятно, каким именно аспектом (малые размеры, материал, применённое при их синтезе покрытие или окружающие вещества) обусловлена токсичность НЧ и что представляет основную опасность? Роль стабилизирующих покрытий и белковой короны в проявлении токсичности НЧ изучена недостаточно. Далеко не во всех проведённых исследованиях была предусмотрена группа животных для отдельной оценки возможного токсического влияния вещества покрытия НЧ. В такой группе животные должны получать отдельно вещество покрытия в дозе, эквивалентной дозе вещества с НЧ. Наличие такой группы необходимо для корректной трактовки данных о токсических эффектах НЧ, стабилизированных данным веществом: не доказано, что всегда

токсичны именно НЧ. Касательно препаратов серебра, например, так и не сформировано единого мнения, какая именно из его форм в растворе — НЧ или ионы (Ag^+) — ответственна за основное обнаруживаемое токсическое воздействие. Часто в экспериментах ионы Ag^+ оказывали более выраженный токсический эффект.

Наименее изучен сегодня вопрос о роли окружающих НЧ веществ в генерации токсического воздействия. В биологических жидкостях и средах вокруг НЧ часто формируется белковая корона, однако очень слабо изучены закономерности её формирования, особенности состава и взаимодействия как с НЧ, так и с компонентами клеточных мембран. Слабо изучено образование белковой короны в исследованиях *in vivo*. Неоднократно в связи с этим отмечены свидетельства влияния ионного состава и общей солёности среды на биодоступность НЧ, однако нами при изучении литературы не обнаружено систематических исследований, рассматривающих свойства НЧ при содержании солей в среде, близком к естественному, например в воде разных морей. Нитрозирующий стресс как сопровождающий наличие окислительного стресса, но отличающийся от него процесс выявлен в качестве одного из путей токсического влияния НЧ, однако условия его возникновения тоже не охарактеризованы подробно: не выявлены зависимости от дозы, размера, типа НЧ и т.п.

Непонятным остаётся и родственный предыдущему вопросу: почему в ряде исследований токсическое воздействие НЧ не обнаруживается? Что влияет на его отсутствие? Можно ли использовать эти ситуации для защиты от токсического действия НЧ? Возможно ли, например, создание на этой основе лекарственных препаратов, снижающих токсическое действие НЧ? Пока эти вопросы остаются без ответа. По такому перспективному, казалось бы, направлению исследований, как подбор веществ с защитными свойствами для смягчения или сведения к минимуму токсического воздействия НЧ, в особенности на нервную систему, систематических исследований не найдено. Данные о защитном действии различных веществ (скажем, L-цистеина) пока фрагментарны и разрознены. Такие исследования не объединены общей идеей поиска мер защиты от токсического действия НЧ.

Ряд проблем не решён и при оценке вызванных воздействием НЧ нарушений в мозге и поведении. В первых, более или менее подробно пока исследованы только те когнитивные функции и память, которые относительно просто оцениваются в стандартных поведенческих тестах (водный лабиринт Морриса, Y-лабиринт, тест «открытое поле» и т.д.). Многие другие функции мозга, которые исследовать сложнее, например рассудочную деятельность у грызунов, пока, видимо, не изучали в связи с проблемой токсического действия НЧ. В большинстве работ токсические эффекты выявлены на взрослых животных. Сравнить же сегодня глубину вызываемых НЧ дисфункций мозга у взрослых и молодых особей, выявить

наиболее чувствительный к НЧ возрастной период пока затруднительно — данных мало. Значим ли фактор пола в подобных экспериментах — также вопрос нерешённый, потому что большинство исследований проводят на особях только одного из полов. Слабо понятны закономерности распределения по структурам мозга накапливающихся в нём НЧ, особенно в зависимости от их размера и типа материала.

При анализе влияния НЧ на животных, контактирующих с этими частицами в раннем онтогенезе, выявлено, что в одних экспериментах усиливается тревожность, а в других — депрессивное поведение. Вопрос о том, какими факторами обусловлен тот или иной альтернативный характер проявляющихся нарушений, обязательно требует дальнейшего изучения. Необходимо также отдельное рассмотрение последствий пренатального контакта с НЧ и раннего постнатального контакта с этими частицами при лактации. Несмотря на то, что в естественных условиях детёныши будут, скорее всего, подвергаться обоим вариантам контакта с НЧ, из-за разницы путей поступления НЧ в организм их токсическое действие может быть выражено по-разному в этих случаях. А работ, где отдельно охарактеризованы эффекты после контакта с НЧ только при лактации, очень мало.

Как итог, можно констатировать, что проблема изучения токсичности НЧ и наноматериалов в целом во втором десятилетии XXI века достигла, возможно, по интенсивности и массовости проводимых исследований сегодня своего пика или близка к этому. Однако многие вопросы ещё предстоит изучить. По отдельным вопросам проблема пока далека от понимания, особенно по части возможной защиты от токсического действия НЧ. Видимо, перечисленные нерешённые проблемы и станут основой для продолжения исследований в последующие 10–15 лет.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ / ADDITIONAL INFORMATION

Вклад авторов. А.Л. Ивлиева собрала и проанализировала литературные источники, составила первый вариант рукописи и участвовала в редакции переработанного варианта рукописи. И. Зиньковская подготовила раздел о методах детекции и количественного анализа наночастиц и участвовала в утверждении переработанного варианта рукописи. Е.Н. Петрицкая внесла существенный вклад в дизайн обзора, интерпретацию и анализ литературных данных, участвовала в утверждении переработанного варианта рукописи. Д.А. Рогаткин внёс основной вклад в общую концепцию обзора, в анализ и интерпретацию данных и существенно переработал первый вариант рукописи. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

Источники финансирования. Исследование проведено при отсутствии внешнего финансирования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Author contributions. A.L. Ivlieva collected and analyzed literary sources, compiled the initial version of the manuscript, and participated in editing of the revised version of the manuscript. I. Zinkovskaya prepared a section on the methods of detection and quantitative analysis of nanoparticles and took part in the approval of the revised version of the manuscript. E.N. Petritskaya contributed substantially to the design of the review, interpretation, and analysis of literature data and participated in the approval of the revised

version of the manuscript. D.A. Rogatkin made the main contribution to the general concept of the review, analysis, and interpretation of the data and revised significantly the initial version of the manuscript. All authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria. All authors have made a significant contribution to the concept development, conducting the search and analytical work and preparing the article, as well as read and approved the final version before its publication.

Funding. The study had no external funding.

Competing interests. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 30 апреля 2013 г. № 281 «Об утверждении научных платформ медицинской науки». Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70278972/> Дата обращения: 16.11.2020.
2. OECD test guidelines for chemicals. Available from: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm>
3. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Лопатина М.В., Рогаткин Д.А., Зиньковская И. Оценка когнитивных способностей мышей, подвергнутых воздействию наночастиц серебра во время пренатального развития и лактации // Когнитивное моделирование: Труды Седьмого Международного форума по когнитивному моделированию. В 3 частях: Труды Творческой школы, Труды XX Международной конференции, Труды VII Международной конференции, Ретимно-Греция (о. Крит), 05–15 сентября 2019 года / Научные редакторы С.И. Масалова, Н.К. Рябцева, В.Д. Соловьев. Ретимно-Греция (о. Крит): Общество с ограниченной ответственностью «Фонд науки и образования», 2019. С. 276–282.
4. Aijie Ch., Huimin L., Jia L., et al. Central neurotoxicity induced by the instillation of ZnO and TiO₂ nanoparticles through the taste nerve pathway // *Nanomedicine (Lond.)*. 2017. Vol. 12, N 20, P. 2453–2470. doi: 10.2217/nmm-2017-0171
5. Davenport L.L., Hsieh H., Eppert B.L., et al. Systemic and behavioral effects of intranasal administration of silver nanoparticles // *Neurotoxicol Teratol*. 2015. Vol. 51, P. 68–76. doi: 10.1016/j.ntt.2015.08.006
6. Ghaderi Sh., Tabatabaei S.R.F., Varzi H.N., Rashno M. Induced adverse effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on neurobehavioral development of offspring of mice // *J Toxicol Sci*. 2015. Vol. 40, N 2, P. 263–275. doi: 10.2131/jts.40.263
7. Greish K., Alqahtani A.A., Alotaibi A.F., et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice // *Int J Environ Res Public Health*. 2019. Vol. 16, N 1. P. 148. doi: 10.3390/ijerph16010148
8. Ivlieva A.L., Demin V.A., Petritskaya E.N., Antsiferova A.A. Preliminary results on the impact of nanoparticles on brain functioning // *Materials today: proceedings*. 2017. Vol. 4, N 7. P. 6901–6907. doi: 10.1016/j.matpr.2017.07.019
9. Liu P., Huang Zh., Gu N. Exposure to silver nanoparticles does not affect cognitive outcome or hippocampal neurogenesis in adult mice // *Ecotoxicol Environ Saf*. 2013. Vol. 87. P. 124–130. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.10.014
10. Mohammadipour A., Fazel A., Haghiri H., et al. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy; impaired memory and decreased hippocampal cell proliferation in rat offspring // *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014. Vol. 37, N 2. P. 617–625. doi: 10.1016/j.etap.2014.01.014
11. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Демин В.А. Методические особенности применения водного лабиринта Морриса для оценки когнитивных функций у животных // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2016. Т. 102, № 1. С. 3–17.
12. Hritcu L., Stefan M., Ursu L., et al. Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficit in laboratory rats // *Open Life Sciences*. 2011. Vol. 6, N 4. P. 497–509. doi: 10.2478/s11535-011-0022-z
13. Hu R., Zheng L., Zhang T., et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles // *J Hazard Mater*. 2011. Vol. 191, N 1-3. P. 32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027
14. Горина Я.В., Лопатина О.Л., Комлева Ю.К., и др. Восьмирукавный радиальный лабиринт как инструмент для оценки пространственного обучения и памяти у мышей // *Сибирское медицинское обозрение*. 2016. № 5 (101). С. 46–52.
15. Cui Y., Chen X., Zhou Z., et al. Prenatal exposure to nanoparticulate titanium dioxide enhances depressive-like behaviors in adult rats // *Chemosphere*. 2014. Vol. 96. P. 99–104. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.07.051
16. Dabrowska-Bouta B., Zieba M., Orzelska-Gorka J., et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and behavior of adult rats // *Toxicology*. 2016. Vol. 363–364, P. 29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
17. Lueptow L.M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice // *J Vis Exp*. 2017. N 126. P. e55718. doi: 10.3791/55718
18. Antsiferova A., Kopaeva M., Kashkarov P. Effects of prolonged silver nanoparticle exposure on the contextual cognition and behavior of mammals // *Materials (Basel)*. 2018. Vol. 11, N 4. P. 558. doi: 10.3390/ma11040558
19. Ben Younes N.R., Amara S., Mrad I., et al. Subacute toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in male rats: emotional behavior and pathophysiological examination // *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015. Vol. 22, N 11. P. 8728–8737. doi: 10.1007/s11356-014-4002-5
20. Dănilă O.-O., Berghian A.S., Dionisie V., et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress

- in offspring Wistar rats // *Nanomedicine (Lond)*. 2017. Vol. 12, N 12, P. 1455–1473. doi: 10.2217/nnm-2017-0029
21. Engler-Chiurazzi E.B., Stapleton P.A., Stalnaker J.J., et al. Impacts of prenatal nanomaterial exposure on male adult Sprague Dawley rat behavior and cognition // *J Toxicol Environ Health A*. 2016. Vol. 79, N 11. P. 447–452. doi: 10.1080/15287394.2016.1164101
 22. Javurek A.B., Suresh D., Spollen W.G., et al. Gut dysbiosis and neurobehavioral alterations in rats exposed to silver nanoparticles // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, N 1. P. 2822. doi: 10.1038/s41598-017-02880-0
 23. Tabatabaei S.R.F., Moshrefi M., Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice // *Indian J Pharm Sci*. 2015. Vol. 77, N 6. P. 681–686. doi: 10.4103/0250-474x.174983
 24. Heidari Z., Mohammadipour A., Haeri P., Ebrahimzadeh-bideskan A. The effect of titanium dioxide nanoparticles on mice midbrain substantia nigra // *Iran J Basic Med Sci*. 2019. Vol. 22, N 7, P. 745–751. doi: 10.22038/ijbms.2019.33611.8018
 25. File S.E., Seth P. A review of 25 years of the social interaction test // *European journal of pharmacology*. 2003. Vol. 463, N 1-3. P. 35–53. doi: 10.1016/S0014-2999(03)01273-1
 26. Kim E.-M., Palmer P., Howard V., et al. Effect of intracerebroventricular injection of TiO₂ nanoparticles on complex behavior in the rat // *J Nanosci Nanotechnol*. 2013. Vol. 13, N 12. P. 8325–8330. doi: 10.1166/jnn.2013.8217
 27. Krawczynska A., Dziendzikowska K., Gromadzka-Ostrowska J., et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renine-angiotensin system in brain // *Food Chem Toxicol*. 2015. Vol. 85. P. 96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005
 28. Moradi-Sardareh H., Basir H.R.G., Hassan Z.M., et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice // *Life Sci*. 2018. Vol. 211. P. 81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
 29. Sharma A., Muresanu D.F., Lafuente J.V., et al. Sleep deprivation-induced blood-brain barrier breakdown and brain dysfunction are exacerbated by size-related exposure to Ag and Cu nanoparticles. Neuroprotective effects of a 5-HT₃ receptor antagonist ondansetron // *Mol Neurobiol*. 2015. Vol. 52, N 2. P. 867–881. doi: 10.1007/s12035-015-9236-9
 30. Fraga S., Brandão A., Soares M.E., et al. Short- and long-term distribution and toxicity of gold nanoparticles in the rat after a single-dose intravenous administration // *Nanomedicine*. 2014. Vol. 10, N 8. P. 1757–1766. doi: 10.1016/j.nano.2014.06.005
 31. Kreyling W.G., Moeller W., Holzwarth U., et al. Age-dependent rat lung deposition patterns of inhaled 20 nanometer gold nanoparticles and their quantitative biokinetics in adult rats // *ACS Nano*. 2018. Vol. 12, N 8. P. 7771–7790. doi: 10.1021/acsnano.8b01826
 32. Li X., Hu Z., Ma J., et al. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles // *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018. Vol. 167, P. 260–266. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.005
 33. Takeuchi I., Nobata S., Oiri N., Tomoda K., Makino K. Biodistribution and excretion of colloidal gold nanoparticles after intravenous injection: effects of particle size // *Biomed Mater Eng*. 2017. Vol. 28, N 3. P. 315–323. doi: 10.3233/BME-171677
 34. Uma Suganya K.S., Govindaraju K., Sivaraman D., et al. Nanotoxicity assessment of functionalized gold nanoparticles in Sprague–Dawley rats // *Journal of cluster science*. 2017. Vol. 28, N 5. P. 2933–2951. doi: 10.1007/s10876-017-1269-y
 35. Lee U., Yoo C.-J., Kim Y.-J., Yoo Y.-M. Cytotoxicity of gold nanoparticles in human neural precursor cells and rat cerebral cortex // *J Biosci Bioeng*. 2016. Vol. 121, N 3. P. 341e344. doi: 10.1016/j.jbiosc.2015.07.004
 36. Grissa I., ElGhoul J., Mrimi R., et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO₂ nanoparticles // *Brain Res Bull*. 2020. Vol. 155, P. 119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
 37. Кривова Н.А., Ходанович М.Ю., Замощина Т.А., и др. Влияние диоксида титана на некоторые функции центральной нервной системы крыс // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2011. № 2 (14). С. 96–109.
 38. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н. Сохранение памяти о прохождении водного лабиринта Морриса спустя четыре месяца после тестирования. В сборнике: *Когнитивное моделирование. Труды Пятого Международного форума по когнитивному моделированию (10–17 сентября 2017 г., Португалия, Кашкайш)*. В 2 частях. Под ред. С.И. Масалова, В.Н. Полякова, В.Д. Соловьева. Часть 2. Когнитивное моделирование в науке, культуре, образовании: Труды V Международной конференции «Когнитивное моделирование в науке, культуре, образовании. CMSCE-2017». Ростов-на-Дону : Фонд науки и образования, 2017. С. 298–303.
 39. Ивлиева А.Л., Петрицкая Е.Н., Лопатина М.В. Предварительные данные о влиянии наночастиц на когнитивные способности молодых животных. В сборнике: *Когнитивное моделирование. Труды Шестого Международного форума по когнитивному моделированию (30 сентября–07 октября 2018 г., Тель-Авив, Израиль)*. В 2 частях. Под ред. С.И. Масалова, В.Н. Полякова, В.Д. Соловьева. Часть 2. Когнитивное моделирование в науке, культуре, образовании: Труды VI Международной конференции «Когнитивное моделирование в науке, культуре, образовании. CMSCE-2018». Ростов-на-Дону : Фонд науки и образования, 2018. С. 280–285.
 40. Ivlieva A.L., Petritskaya E.N., Rogatkin D.A., et al. Impact of chronic oral administration of silver nanoparticles on cognitive abilities of mice // *Physics of particles and nuclei letters*. 2021. Vol. 18, N 2. P. 250–265. doi: 10.1134/S1547477121020072
 41. Khan H.A., Alamery S., Ibrahim K.E., et al. Size and time-dependent induction of proinflammatory cytokines expression in brains of mice treated with gold nanoparticles // *Saudi J Biol Sci*. 2019. Vol. 26, N 3. P. 625–631. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.09.012
 42. Ferreira G.K., Cardoso E., Vuolo F.S., et al. Effect of acute and long-term administration of gold nanoparticles on biochemical parameters in rat brain // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017. Vol. 79. P. 748–755. doi: 10.1016/j.msec.2017.05.110
 43. Tuna B.G., Yesilay G., Yavuz Y., et al. Electrophysiological effects of polyethylene glycol modified gold nanoparticles on mouse hippocampal neurons // *Heliyon*. 2020. Vol. 6, N 12. e05824. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05824
 44. Sanati M., Khodaghohi F., Aminyavari S., et al. Impact of gold nanoparticles on amyloid β -induced Alzheimer's disease in a rat animal model: involvement of STIM proteins // *ACS Chem Neurosci*. 2019. Vol. 10, N 5. P. 2299–2309. doi: 10.1021/acchemneuro.8b00622

45. Hou K., Zhao J., Wang H., et al. Chiral gold nanoparticles enantioselectively rescue memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease // *Nat Commun.* 2020. Vol. 11, N 1. P. 4790. doi: 10.1038/s41467-020-18525-2
46. Fatemi M. The effects of indirect exposure of nanosilver on caspase-8 and caspase-9 levels in liver and brain of suckling rats // *Nanomed J.* 2019. Vol. 6, N 3, P. 176–182. doi: 10.22038/NMJ.2019.06.00004
47. Naserzadeh P., Ghanbary F., Ashtari P., et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit // *J Biomed Mater Res A.* 2018. Vol. 106, N 2. P. 580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
48. Fatemi M., Roodbari N.H., Ghaedi K., Naderi G. The effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on the developing brain in neonatal rats // *Journal of Biological Research.* 2013. Vol. 20. P. 233.
49. Zhou Y., Hong F., Tian Y., et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice // *Toxicol Res (Camb).* 2017. Vol. 6, N 6. P. 889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
50. Zhou Y., Ji J., Chen Ch., Hong F. Retardation of axonal and dendritic outgrowth is associated with the MAPK signaling pathway in offspring mice following maternal exposure to nanosized titanium dioxide // *J Agric Food Chem.* 2019. Vol. 67, N 9. P. 2709–2715. doi: 10.1021/acs.jafc.8b06992
51. Bideskan A.E., Mohammadipour A., Fazel A., et al. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis // *Exp Toxicol Pathol.* 2017. Vol. 69, N 6. P. 329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006
52. Zhao G., Wang Z., Xu L., Xia C.-X., Liu J.-X. Silver nanoparticles induce abnormal touch responses by damaging neural circuits in zebrafish embryos // *Chemosphere.* 2019. Vol. 229. P. 169–180. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.04.223
53. Morishita Y., Yoshioka Y., Takimura Y., et al. Distribution of silver nanoparticles to breast milk and their biological effects on breast-fed offspring mice // *ACS Nano.* 2016. Vol. 10, N 9. P. 8180–8191. doi: 10.1021/acsnano.6b01782
54. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., и др. Некоторые проявления кардиотоксичности наночастиц золота // *Нанотехника.* 2014. № 3 (36). С. 38–42.
55. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А., Литвинова К.С., Бобров М.А. К вопросу о токсичности наночастиц серебра при пероральном введении коллоидного раствора. // *Альманах клинической медицины.* 2011. № 25. С. 9–12.
56. Петрицкая Е.Н., Абаева Л.Ф., Рогаткин Д.А. Некоторые аспекты токсичности наночастиц серебра в эксперименте со взрослыми мышами при пероральном приеме коллоидных растворов // *Нанотехника.* 2013. № 1 (33). С. 108–112.

REFERENCES

1. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of April 30, 2013 N 281 «*Ob utverzhdenii nauchnykh platform meditsinskoi nauki*». Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70278972/> (In Russ).
2. *OECD test guidelines for chemicals.* Available from: <https://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforhetestingofchemicals.htm>
3. Ivlieva AL, Petrinskaya EN, Lopatina MV, Rogatkin DA, Zinicovscaia I. Evaluation of the cognitive abilities of mice exposed to silver nanoparticles during prenatal development and lactation. In: *Cognitive modeling: proceedings of the Seventh international cognitive modeling forum.* Rostov-on-Don: Science and Education Foundation; 2019. P. 276–282. (In Russ).
4. Aijie Ch, Huimin L, Jia L, et al. Central neurotoxicity induced by the instillation of ZnO and TiO2 nanoparticles through the taste nerve pathway. *Nanomedicine (Lond).* 2017;12(20):2453–2470. doi: 10.2217/nnm-2017-0171
5. Davenport LL, Hsieh H, Eppert BL, et al. Systemic and behavioral effects of intranasal administration of silver nanoparticles. *Neurotoxicol Teratol.* 2015;51:68–76. doi: 10.1016/j.ntt.2015.08.006
6. Ghaderi Sh, Tabatabaei SRF, Varzi HN, Rashno M. Induced adverse effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on neurobehavioral development of offspring of mice. *J Toxicol Sci.* 2015;40(2):263–275. doi: 10.2131/jts.40.263
7. Greish K, Alqahtani AA, Alotaibi AF, et al. The effect of silver nanoparticles on learning, memory and social interaction in BALB/C mice. *Int J Environ Res Public Health.* 2019;16(1):148. doi: 10.3390/ijerph16010148
8. Ivlieva AL, Demin VA, Petrinskaya EN, Antsiferova AA. Preliminary results on the impact of nanoparticles on brain functioning. *Materials today: proceedings.* 2017;4(7):6901–6907. doi: 10.1016/j.matpr.2017.07.09.
9. Liu P, Huang Zh, Gu N. Exposure to silver nanoparticles does not affect cognitive outcome or hippocampal neurogenesis in adult mice. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;87:124–130. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.10.014
10. Mohammadipour A, Fazel A, Haghiri H, et al. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy; impaired memory and decreased hippocampal cell proliferation in rat offspring. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2014;37(2):617–625. doi: 10.1016/j.etap.2014.01.014
11. Ivlieva AL, Petrinskaya EN, Rogatkin DA, Demin VA. Methodological features of the use of the Morris water labyrinth for the assessment of cognitive functions in animals. *Russian Physiological Journal named after I.M. Sechenov.* 2016;102(1);3–17. (In Russ).
12. Hritcu L, Stefan M, Ursu L, et al. Exposure to silver nanoparticles induces oxidative stress and memory deficit in laboratory rats. *Open Life Sciences.* 2011;6(4):497–509. doi: 10.2478/s11535-011-0022-z
13. Hu R, Zheng L, Zhang T, et al. Molecular mechanism of hippocampal apoptosis of mice following exposure to titanium dioxide nanoparticles. *J Hazard Mater.* 2011;191(1-3):32–40. doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.04.027
14. Gorina YaV, Lopatina OL, Komleva YuK, et al. Eight-arm radial maze as a tool for assessing spatial learning and memory in mice. *Siberian medical review.* 2016;(5):46–52. (In Russ).

15. Cui Y, Chen X, Zhou Z, et al. Prenatal exposure to nanoparticulate titanium dioxide enhances depressive-like behaviors in adult rats. *Chemosphere*. 2014;96:99–104. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.07.051
16. Dabrowska-Bouta B, Zieba M, Orzelska-Gorka J, et al. Influence of a low dose of silver nanoparticles on cerebral myelin and behavior of adult rats. *Toxicology*. 2016;363–364:29–36. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.007
17. Lueptow LM. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. *J Vis Exp*. 2017;(126):e55718. doi: 10.3791/55718
18. Antsiferova A, Kopaeva M, Kashkarov P. Effects of prolonged silver nanoparticle exposure on the contextual cognition and behavior of mammals. *Materials (Basel)*. 2018;11(4):558. doi: 10.3390/ma11040558
19. Ben Younes NR, Amara S, Mrad I, et al. Subacute toxicity of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in male rats: emotional behavior and pathophysiological examination. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2015;22(11):8728–8737. doi: 10.1007/s11356-014-4002-5
20. Dănilă O-O, Berghian AS, Dionisie V, et al. The effects of silver nanoparticles on behavior, apoptosis and nitro-oxidative stress in offspring Wistar rats. *Nanomedicine (Lond)*. 2017;12(12):1455–1473. doi: 10.2217/nnm-2017-0029
21. Engler-Chiurazzi EB, Stapleton PA, Stalnaker JJ, et al. Impacts of prenatal nanomaterial exposure on male adult Sprague Dawley rat behavior and cognition. *J Toxicol Environ Health A*. 2016;79(11):447–452. doi: 10.1080/15287394.2016.1164101
22. Javurek AB, Suresh D, Spollen WG, et al. Gut dysbiosis and neurobehavioral alterations in rats exposed to silver nanoparticles. *Sci Rep*. 2017;7(1):2822. doi: 10.1038/s41598-017-02880-0
23. Tabatabaei SRF, Moshrefi M, Askaripour M. Prenatal exposure to silver nanoparticles causes depression like responses in mice. *Indian J Pharm Sci*. 2015;77(6):681–686. doi: 10.4103/0250-474x.174983
24. Heidari Z, Mohammadipour A, Haeri P, Ebrahimzadeh-Bideskan A. The effect of titanium dioxide nanoparticles on mice midbrain substantia nigra. *Iran J Basic Med Sci*. 2019;22(7):745–751. doi: 10.22038/ijbms.2019.33611.8018
25. File SE, Seth P. A review of 25 years of the social interaction test. *European journal of pharmacology*. 2003;463(1–3):35–53. doi: 10.1016/S0014-2999(03)01273-1
26. Kim E-M, Palmer P, Howard V, et al. Effect of intracerebroventricular injection of TiO₂ nanoparticles on complex behavior in the rat. *J Nanosci Nanotechnol*. 2013;13(12):8325–8330. doi: 10.1166/jnn.2013.8217
27. Krawczynska A, Dziendzikowska K, Gromadzka-Ostrowska J, et al. Silver and titanium dioxide nanoparticles alter oxidative/inflammatory response and renine-angiotensin system in brain. *Food Chem Toxicol*. 2015;85: 96–105. doi: 10.1016/j.fct.2015.08.005
28. Moradi-Sardareh H, Basir HRG, Hassan ZM, et al. Toxicity of silver nanoparticles on different tissues of Balb/C mice. *Life Sci*. 2018;211:81–90. doi: 10.1016/j.lfs.2018.09.001
29. Sharma A, Muresanu DF, Lafuente JV, et al. Sleep deprivation-induced blood-brain barrier breakdown and brain dysfunction are exacerbated by size-related exposure to Ag and Cu nanoparticles. Neuroprotective effects of a 5-HT₃ receptor antagonist ondansetron. *Mol Neurobiol*. 2015;52(2):867–881. doi: 10.1007/s12035-015-9236-9
30. Fraga S, Brandão A, Soares ME, et al. Short- and long-term distribution and toxicity of gold nanoparticles in the rat after a single-dose intravenous administration. *Nanomedicine*. 2014;10(8):1757–1766. doi: 10.1016/j.nano.2014.06.005
31. Kreyling WG, Moeller W, Holzwarth U, et al. Age-dependent rat lung deposition patterns of inhaled 20 nanometer gold nanoparticles and their quantitative biokinetics in adult rats. *ACS Nano*. 2018;12(8):7771–7790. doi: 10.1021/acsnano.8b01826
32. Li X, Hu Z, Ma J, et al. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2018;167:260–266. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.005
33. Takeuchi I, Nobata S, Oiri N, Tomoda K, Makino K. Biodistribution and excretion of colloidal gold nanoparticles after intravenous injection: effects of particle size. *Biomed Mater Eng*. 2017;28(3):315–323. doi: 10.3233/BME-171677
34. Uma Suganya KS, Govindaraju K, Sivaraman D, et al. Nanotoxicity assessment of functionalized gold nanoparticles in Sprague-Dawley rats. *Journal of cluster science*. 2017;28(5):2933–2951. doi: 10.1007/s10876-017-1269-y
35. Lee U, Yoo C-J, Kim Y-J, Yoo Y-M. Cytotoxicity of gold nanoparticles in human neural precursor cells and rat cerebral cortex. *J Biosci Bioeng*. 2016;121(3):341e344. doi: 10.1016/j.jbiosc.2015.07.004
36. Grissa I, ElGhoul J, Mrimi R, et al. In deep evaluation of the neurotoxicity of orally administered TiO₂ nanoparticles. *Brain Res Bull*. 2020;155:119–128. doi: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.005
37. Krivova NA, Khodanovich MYu, Zamoshchina TA, et al. The influence of the titanium dioxide on some functions of central nervous system of rats. *Bulletin of the Tomsk state university. Biology*. 2011;2(14):96–109. (In Russ).
38. Ivlieva AL, Petritskaya EN. Preserving the memory of the passage of the Morris water maze four months after testing. In: *Cognitive Modeling: Proceedings of the Fifth International Forum on Cognitive Modeling*. Rostov-on-Don: Science and Education Foundation; 2017. P. 298–303. (In Russ).
39. Ivlieva AL, Petritskaya EN, Lopatina MV. Preliminary data on the effect of nanoparticles on the cognitive abilities of young animals. In: *Cognitive Modeling: Proceedings of the Sixth International Forum on Cognitive Modeling*. Rostov-on-Don: Science and Education Foundation; 2018. P. 280–285. (In Russ).
40. Ivlieva AL, Petritskaya EN, Rogatkin DA, et al. Impact of chronic oral administration of silver nanoparticles on cognitive abilities of mice. *Physics of particles and nuclei letters*. 2021;18(2):250–265. doi: 10.1134/S1547477121020072
41. Khan HA, Alamery S, Ibrahim KE, et al. Size and time-dependent induction of proinflammatory cytokines expression in brains of mice treated with gold nanoparticles. *Saudi J Biol Sci*. 2019;26(3):625–631. doi: 10.1016/j.sjbs.2018.09.012
42. Ferreira GK, Cardoso E, Vuolo FS, et al. Effect of acute and long-term administration of gold nanoparticles on biochemical parameters in rat brain. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;79:748–755. doi: 10.1016/j.msec.2017.05.110
43. Tuna BG, Yesilay G, Yavuz Y, et al. Electrophysiological effects of polyethylene glycol modified gold nanoparticles on mouse hippocampal neurons. *Heliyon*. 2020;6(12):e05824. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05824

44. Sanati M, Khodaghali F, Aminyavari S, et al. Impact of gold nanoparticles on amyloid β -Induced Alzheimer's disease in a rat animal model: involvement of STIM proteins. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10(5):2299–2309. doi: 10.1021/acschemneuro.8b00622
45. Hou K, Zhao J, Wang H, et al. Chiral gold nanoparticles enantioselectively rescue memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*. 2020;11(1):4790. doi: 10.1038/s41467-020-18525-2
46. Fatemi M. The effects of indirect exposure of nanosilver on caspase-8 and caspase-9 levels in liver and brain of suckling rats. *Nanomed J*. 6(3):176–182. doi: 10.22038/NMJ.2019.06.00004
47. Naserzadeh P, Ghanbary F, Ashtari P, et al. Biocompatibility assessment of titanium dioxide nanoparticles in mice fetoplacental unit. *J Biomed Mater Res A*. 2018;106(2):580–589. doi: 10.1002/jbm.a.36221
48. Fatemi M, Roodbari NH, Ghaedi K, Naderi G. The effects of prenatal exposure to silver nanoparticles on the developing brain in neonatal rats. *Journal of Biological Research*. 2013;20:233.
49. Zhou Y, Hong F, Tian Y, et al. Nanoparticulate titanium dioxide-inhibited dendritic development is involved in apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in offspring mice. *Toxicol Res (Camb)*. 2017;6(6):889–901. doi: 10.1039/c7tx00153c
50. Zhou Y, Ji J, Chen Ch, Hong F. Retardation of axonal and dendritic outgrowth is associated with the MAPK signaling pathway in offspring mice following maternal exposure to nanosized titanium dioxide. *J Agric Food Chem*. 2019;67(9):2709–2715. doi: 10.1021/acs.jafc.8b06992
51. Bideskan AE, Mohammadipour A, Fazel A, et al. Maternal exposure to titanium dioxide nanoparticles during pregnancy and lactation alters offspring hippocampal mRNA BAX and Bcl-2 levels, induces apoptosis and decreases neurogenesis. *Exp Toxicol Pathol*. 2017;69(6):329–337. doi: 10.1016/j.etp.2017.02.006
52. Zhao G, Wang Z, Xu L, Xia C-X, Liu J-X. Silver nanoparticles induce abnormal touch responses by damaging neural circuits in zebrafish embryos. *Chemosphere*. 2019;229:169–180. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.04.223
53. Morishita Y, Yoshioka Y, Takimura Y, et al. Distribution of silver nanoparticles to breast milk and their biological effects on breast-fed offspring mice. *ACS Nano*. 2016;10(9):8180–8191. doi: 10.1021/acsnano.6b01782
54. Petriskaya EN, Abaeva LF, Rogatkin DA, Shumskii VI, Lipatova VA, Kutsev SI, Botchei VM. Some manifestations of cardiotoxicity of gold nanoparticles. *Nanotechnics*. 2014;3(36):38–42. (In Russ).
55. Petriskaya EN, Abaeva LF, Rogatkin DA, Litvinova KS, Bobrov MA. On the problem of silver nanoparticles toxicity after oral administration of colloidal solution. *Almanac of Clinical Medicine*. 2011;(25):9–12. (In Russ).
56. Petriskaya EN, Abaeva LF, Rogatkin DA. Some aspects of the toxicity of silver nanoparticles in an experiment with adult mice after oral administration of colloidal solutions. *Nanotechnics*. 2013;(1):108–112. (In Russ).

ОБ АВТОРАХ

***Рогаткин Дмитрий Алексеевич**, д.техн.н., доцент;
адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, 61/2;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;
eLibrary SPIN: 9130-8111;
e-mail: d.rogatkin@monikiweb.ru

Зиньковская Инга, д.х.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;
eLibrary SPIN: 6814-1720;
e-mail: zinikovskaia@mail.ru

Петрицкая Елена Николаевна, к.б.н.;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;
eLibrary SPIN: 2641-3111;
e-mail: medphys@monikiweb.ru

Ивлиева Александра Леонидовна,
младший научный сотрудник;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>;
eLibrary SPIN: 5555-1343; e-mail: ivlieva@medphyslab.com

AUTHORS INFO

***Dmitry A. Rogatkin**, Dr. Sci. (Techn.), associate professor;
address: 61/2 Schepkin street, 129110, Moscow, Russia;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7755-308X>;
eLibrary SPIN: 9130-8111;
e-mail: d.rogatkin@monikiweb.ru

Inga Zinivovskaia, Dr. Sci. (Chem.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0820-887X>;
eLibrary SPIN: 6814-1720;
e-mail: zinikovskaia@mail.ru

Elena N. Petriskaya, Cand. Sci. (Biol.);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3836-0103>;
eLibrary SPIN: 2641-3111;
e-mail: medphys@monikiweb.ru

Alexandra L. Ivlieva, researcher (Biology);
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6331-6233>;
eLibrary SPIN: 5555-1343;
e-mail: ivlieva@medphyslab.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author