

## Влияние ультрадисперсных частиц Ti и TiO<sub>2</sub> на физиологический статус и состояние центральной нервной системы животных

*Е.В. Шейда, к.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ;  
Е.А. Русакова, к.б.н., ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН;  
О.Ю. Сипайлова, к.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГМУ;  
Е.А. Сизова, д.б.н., ФГБОУ ВО Оренбургский ГУ, ФГБНУ  
ФНЦ БСТ РАН*

Ультрадисперсные частицы титана и диоксида титана (УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub>) в настоящее время являются наиболее востребованными, широко используемыми в различных областях. Диоксид титана используется в качестве материала для фотокаталитической стерилизации в медицинской, пищевой и микробиологической промышленности, а также для решения экологических проблем [1].

Благодаря своим оптическим и электрическим свойствам УДЧ TiO<sub>2</sub> используются для повышения потребительских качеств бумаги, красок, керамики, косметических средств, пищевых продуктов, фармацевтических средств и т.п. [2, 3]. Однако необходимо учитывать, что УДЧ и их производство значительно отличаются по своим свойствам и эффектам, комплексу физических, химических и биологических свойств от макро- и микроформ веществ [4]. Для большинства УДЧ не известны механизмы поступления в организм, биосовместимости, биотрансформации, транслокации в органах и тканях и, что особенно важно, их токсичности.

Известно, что нервная система является наиболее чувствительной к различным воздействиям, поэтому тестирование УДЧ на животных с целью изучения поведенческих реакций и эмоционального напряжения является неотъемлемой частью установления нейротропных эффектов УДЧ [5].

В настоящее время УДЧ активно внедряются в практику, однако это должно быть сопряжено с глубоким изучением и осмыслением побочных эффектов и потенциальных рисков, которые связаны с их использованием [6]. Многочисленные исследования показывают неоднозначные последствия воздействия УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub>, показано наличие общей токсичности и цитотоксичности диоксида титана [7, 8]. Для оценки характера нейротропных воздействий диоксида титана в виде частиц размером 12 и 175 нм проведено исследование на крысах, которым в течение 7 дней скармливали 250 мг/кг TiO<sub>2</sub> с 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 ультрадисперсная его форма продемонстрировала в

основном противоположные результаты воздействия на центральную нервную систему животных [9]. Следует отметить, что эти исследования достаточно противоречивые, поэтому **целью** нашего исследования явилось изучение общего воздействия УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub> на рост и развитие внутренних органов крыс, а также изучение особенностей изменения ориентировочно-поведенческой и эмоциональной активностей организма животных.

**Материал и методы исследования.** Объект исследования. Биомедицинские исследования проводили на 300 белых крысах-самцах линии *Wistar* массой 110–180 г. До начала эксперимента животные содержались в условиях экспериментально-биологической клиники ФГБОУ ВПО «Оренбургский государственный университет» на стандартной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258–92) согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3–96 и 51000.4–96). Эксперименты проводились в соответствии с требованиями гуманного обращения с животными [10].

Характеристика УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub>. В эксперименте использовали препараты ультрадисперсных частиц титана (УДЧ Ti) и препараты ультрадисперсных частиц диоксида титана (УДЧ TiO<sub>2</sub>), произведенные ООО «Платина» (г. Москва). УДЧ Ti были получены методом электрического взрыва проводника в атмосфере аргона. УДЧ Ti в своём составе содержали не менее 99,8% Ti; размером 60–80 нм, с удельной поверхностью 13,8 м<sup>2</sup>/г; Z-потенциалом – 18,5 ± 0,5 мВ. УДЧ TiO<sub>2</sub> были получены методом плазмохимического синтеза. УДЧ TiO<sub>2</sub> в своём составе содержали 99,8% TiO<sub>2</sub> и 0,2% Cl<sub>2</sub>; размером 90 нм, с удельной поверхностью 16,5 м<sup>2</sup>/г; Z-потенциалом – 18,5 ± 0,5 мВ.

Схема эксперимента. Все экспериментальные животные были разделены на пять групп (n=6). Все животные содержались в одинаковых условиях, с одинаковым рационом. Контрольную и опытные группы сформировывали из животных одного возраста. Разброс в группах по исходной массе не превышал 10%. Животным I и II опытных групп однократно внутрибрюшинно вводили УДЧ Ti в дозе 8 и 80 мг/кг; животным III и IV опытных групп однократно вводили УДЧ TiO<sub>2</sub> в дозе 13,3 и 133,3 мг/кг. Контрольной группе животных вводили изотонический раствор хлорида натрия 0,9% в эквивалентном объёме. Выбранные концентрации ультрадисперсных частиц не превышали максимальных переносимых доз (МПД) для данного металла. Взвешивание животных проводили каждые три дня в течение всего периода исследования. По окончании

эксперимента (14-е сутки) крыс декапировали под нембуталовым наркозом. После этого проводили анатомическую разделку и взвешивание внутренних органов крыс.

Исследование поведенческой активности. Эмоциональную, двигательную активность и ориентировочно-исследовательское поведение крыс исследовали в тесте «Открытое поле». Подсчитывали количество различных поведенческих реакций: горизонтальная двигательная активность (ГДА) – число пересечённых квадратов по периферии, на 2/3 и в центре площадки; вертикальная двигательная активность (ВДА) – число вставаний на задние лапы; ориентировочно-исследовательская активность – число заглядываний в отверстия поля; эмоциональный фактор – количество фекальных болюсов; груминг – количество умываний, причёсываний и других элементов ухода.

Статистический анализ. Основные данные, полученные в исследованиях, были обработаны с использованием программ «Excel» и «Statistica 6,0».

**Результаты исследования.** На рисунке 1 представлены данные, свидетельствующие о влиянии УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub> на массу внутренних органов крыс. Концентрация 8 мг/кг УДЧ Ti (I гр.) способствовала максимальному изменению массы селезёнки, печени и почек в сторону их увеличения на 15,8; 14,1 и 10,5% соответственно относительно контрольного образца. Установлено незначительное увеличение массы головного мозга (на 4,40% относительно контрольного аналога). Кроме того, среди общей тенденции увеличения массы органов отмечено снижение массы лёгких на 2,90% при сравнении с контролем (рис. 1а).

Воздействие 80 мг/кг УДЧ Ti (II гр.) привело к наибольшему увеличению массы печени, что в числовом значении составляло на 16,8% больше, чем в контроле. Незначительное снижение массы лёгких (на 1,83% при сравнении с аналогом контроля) отмечено при воздействии данной концентрации. УДЧ Ti в концентрации 80 мг/кг (II гр.) способствовали увеличению массы головного мозга и почек – на 7,86 и 3,47% относительно контрольного образца (рис. 1б). Изменение массы селезёнки оказалось незначительным.

Максимальные скачки в изменении массы при концентрации 13,3 мг/кг УДЧ TiO<sub>2</sub> (III гр.) отмечены среди таких органов, как селезёнка (на 24,6%), печень (на 18,5%) и почки (на 14,5%) при сравнении с контрольным аналогом. Примерно одинаковому увеличению массы лёгких и головного мозга (на 6,33 и 6,03% относительно контроля) способствовали УДЧ TiO<sub>2</sub> в данной концентрации (рис. 1в).

Примечательно, что концентрация 133,3 мг/кг УДЧ TiO<sub>2</sub> (IV гр.) способствовала равномерному увеличению массы таких органов, как почки, головной мозг и печень, на 9,39; 8,65 и 6,02% при сравнении с контрольным образцом (рис. 1г).

Однако максимальное увеличение массы было отмечено у такого органа, как селезёнка (на 22,0% относительно контроля). Концентрация УДЧ TiO<sub>2</sub> в количестве 133,3 мг/кг (IV гр.) приводила к изменениям в сторону уменьшения массы лёгких на 4,99%, в отличие от контрольного аналога.

Было изучено влияние УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub> на поведенческую активность крыс. При введении УДЧ

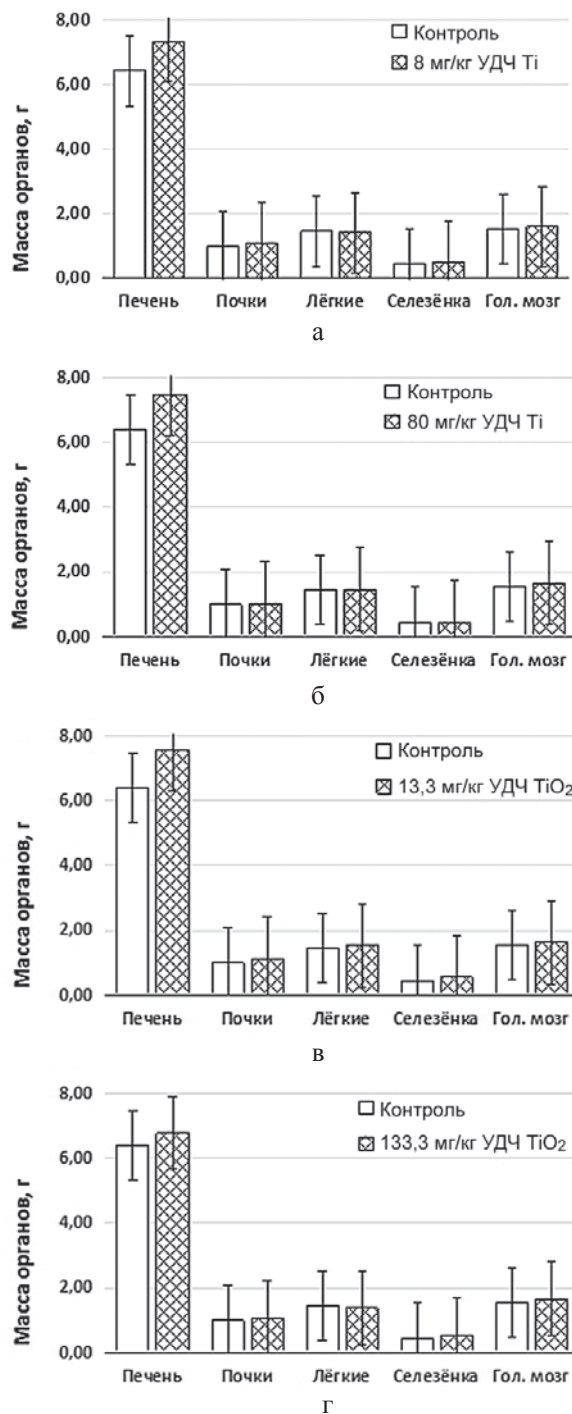


Рис. 1 – Изменение массы внутренних органов после введения различных концентраций УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub>: а) 8 мг/кг УДЧ Ti (I гр.); б) 80 мг/кг УДЧ Ti (II гр.); в) 13,3 мг/кг УДЧ TiO<sub>2</sub> (III гр.); г) 133,3 мг/кг УДЧ TiO<sub>2</sub> (IV гр.)

Ti в дозировке 8 мг/кг (I гр.) на 1-е сутки эксперимента у крыс отмечается снижение ГДА на 14,0% ( $P < 0,01$ ), ВДА – на 7%, на фоне снижения общей ДА произошло увеличение уровня тревожности и страха: груминга – на 61,0% ( $P < 0,01$ ), дефекации – на 18,0%, при этом также увеличилась ориентировочная активность в 2 раза ( $P < 0,05$ ) относительно контроля. На 1-е сутки после введения УДЧ Ti в дозировке 80 мг/кг (II гр.) активность животных изменялась по такому же принципу: снижалась ГДА на 17,0% ( $P < 0,05$ ) и ВДА – на 7,0% относительно контрольных значений, груминг увеличился на 64,0% ( $P < 0,001$ ), количество фекальных болюсов – на 22,0%, ориентировочная деятельность – на 50,0% ( $P < 0,001$ ) при сравнении с контролем.

На 7-е сутки после введения УДЧ Ti ДА в опытных группах относительно контрольных значений увеличилась. При этом в I гр. ГДА увеличилась на 15,0% ( $P < 0,01$ ), ВДА – на 68,0% ( $P < 0,01$ ), уровень эмоционального напряжения также увеличился – груминг – на 63,0% ( $P < 0,001$ ), ориентировочная деятельность – на 40,0% ( $P < 0,05$ ). Во II гр. ГДА увеличилась относительно контроля на 26,0% ( $P < 0,001$ ), ВДА – на 67,0% ( $P < 0,001$ ), груминг – на 65,0% ( $P < 0,01$ ), дефекация – на 6,0%, число обследуемых отверстий – на 17,0% ( $P < 0,001$ ). Следует также отметить, что на 7-е сутки эксперимента двигательная активность во II гр. была выше, чем в I гр. К 7-м суткам после введения УДЧ TiO<sub>2</sub> картина менялась следующим образом: наибольшая чувствительность отмечалась в III гр., при этом в ней отмечена активность больше, чем в IV и в контрольной гр. Относительно контроля в III гр. увеличился уровень ГДА на 27,0% ( $P < 0,001$ ), ВДА – на 69,0% ( $P < 0,01$ ), груминг – в 3 раза ( $P < 0,05$ ). Уровень ГДА и ВДА в IV гр. относительно контроля был выше на 18,0% ( $P < 0,05$ ) и 48,0% ( $P < 0,001$ ) соответственно. Однако относительно III гр. эти показатели снижались: ГДА – на 11,0% и ВДА – на 40,0%. В опытных группах замечено также увеличение показателей груминга по сравнению с контролем

в III гр. на 67,0% ( $P < 0,05$ ), а в IV гр. – на 65,0% ( $P < 0,001$ ).

На 14-е сутки эксперимента отмечена та же закономерность, что и на 7-е сутки эксперимента. При этом в I гр. уровень ГДА и ВДА относительно контроля увеличился на 7,5 и 33,0% ( $P < 0,01$ ), груминг усилился в 6 раз ( $P < 0,001$ ), а ориентировочная деятельность и количество актов дефекации незначительно снизились (рис. 2а, 2б).

Во II гр. ГДА и ВДА увеличились относительно контроля на 23,0% ( $P < 0,01$ ) и 50,0% ( $P < 0,001$ ) соответственно. В III гр. ГДА увеличивалась на 22,0% ( $P < 0,001$ ), ВДА – на 48,0% ( $P < 0,01$ ), груминг – на 87,0% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с контролем. В IV группе повышалась ВДА относительно контроля на 12,0% и груминг – на 77,0% ( $P < 0,01$ ), уровень ГДА незначительно повышался, а уровень ориентировочной активности в III и IV гр. относительно контроля снижался на 31,0% ( $P < 0,01$ ) и 38,0% ( $P < 0,05$ ) соответственно.

Необходимо отметить, что уровень активности в контрольной группе к 7-м суткам снижался, что говорит о наличии эффекта привыкания, а к 14-м суткам немного увеличивалась, в опытных же группах активность увеличивалась от 1-х суток к 14-м, причём высшая активность отмечалась во II группе.

**Выводы.** Исследования влияния УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub> на ориентировочно-поведенческую и двигательную активность животных были в тесте «Открытое поле». Результаты наших исследований показали, что УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub> вызвали серьёзные последствия нарушения двигательной активности животных и их эмоционального поведения. В тесте «Открытое поле» показано увеличение тревожного индекса крыс, что может быть связано с окислительным повреждением в центральной нервной системе (ЦНС). ЦНС является потенциально восприимчивой к воздействию данных частиц.

В результате изучения изменения абсолютной массы тела животных, внутренних органов и головного мозга крыс зафиксировано увеличение данных показателей в опытных группах относительно контроля, что может быть вызвано накоплением УДЧ

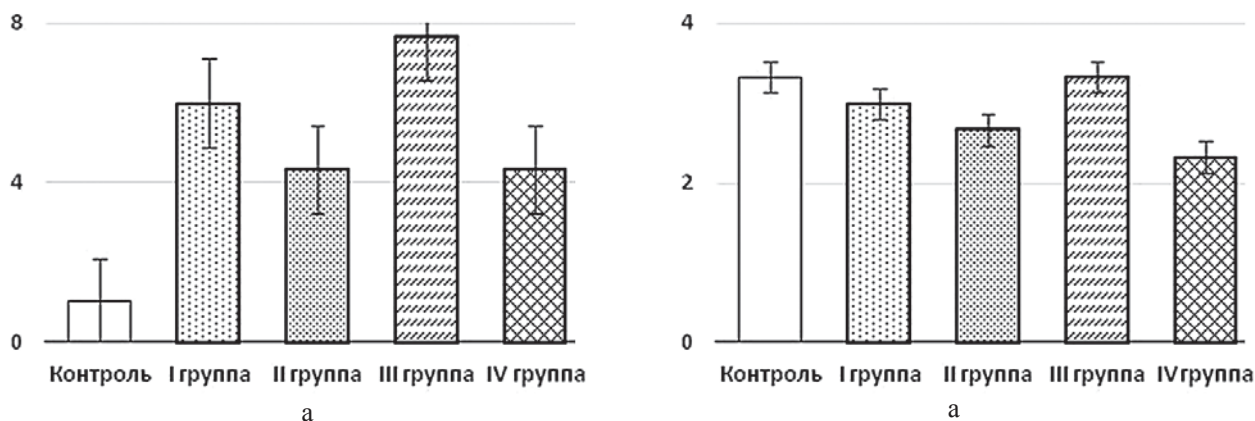


Рис. 2 – Изменение эмоционального состояния крыс после введения различных концентраций УДЧ Ti и TiO<sub>2</sub>: а) груминг, б) дефекация

Ti и TiO<sub>2</sub> в органах и тканях организма крыс. УДЧ, накапливаясь в головном мозге, нарушают тем самым кровообращение, что в свою очередь может влиять на целостность эндотелия клеточной мембраны и нарушение гематоэнцефалического барьера.

Полученные результаты изменения уровня двигательной активности животных, эмоционального напряжения и ориентировочной деятельности свидетельствуют о зависимости данных параметров не только от площади поверхности, размера частиц, поверхностно-активного заряда и др., но и дозировки и времени экспозиции. Полученные данные об изменении двигательной активности животных предполагают, что УДЧ металлов и их оксиды наряду с цитотоксичностью, высокой скоростью проникновения через гематоэнцефалический барьер и др. обладают потенциальным нейротоксическим эффектом в отношении биологических объектов.

### Литература

- Owen R., Depledge M. Nanotechnology and the environment: Risks and rewards / *Marine Pollution Bulletin*. 2005. Vol. 50, № 6. P. 609–612.
- 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.
- Salomon M. Risks of synthetic nanomaterials for human health / *Umweltmedizin in Forschung und Praxis*. 2009. Vol. 14, № 1. P. 7–22.
- 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.
- Jones C.F., Grainger D.W. In vitro assessments of nanomaterial toxicity / *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009. Vol. 61. P. 438–456.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М., 2010.