

РАЗДЕЛ 2 – МОРФОМИКА – НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ PART 2 – MORPHOMICS – NEW TECHNOLOGIES

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА НА СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИППОКАМПА КРЫС

Шарафутдинова Л.А.¹, Валиуллин В.В.²

¹Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; ²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия, e-mail: sharafla@yandex.ru

THE INFLUENCE OF THE TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES ON STRUCTURAL FEATURES OF THE RATS HIPPOCAMPUS

Sharafutdinova LA¹, Valiullin VV²

¹Bashkir State University, Ufa, Russia; ²Kazan State Medical University, Kazan, Russia, e-mail: sharafla@yandex.ru

Для цитирования:

Шарафутдинова Л.А., Валиуллин В.В. Влияние наночастиц диоксида титана на структурные особенности гиппокампа крыс // Морфологические ведомости. - 2018. - Том 26. - № 2. - С. 32-37. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.18\(26\).02.32-37](https://doi.org/10.20340/mv-mn.18(26).02.32-37)

For the citation:

Sharafutdinova LA, Valiullin VV. The influence of the titanium dioxide nanoparticles on structural features of the rats hippocampus. *Morphologicheskie vedomosti – Morphological Newsletter*. 2018 June 30;26(2):32-37. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.18\(26\).02.32-37](https://doi.org/10.20340/mv-mn.18(26).02.32-37)

Резюме: В связи с широким производством и использованием наночастиц диоксида титана (НЧ TiO₂), обладающих токсическими эффектами, возрастает риск их неблагоприятного воздействия на функции различных систем организма человека и, в первую очередь, нервной, ввиду ее чрезвычайно высокой чувствительности к любым повреждающим агентам. Цель работы: изучение структурных характеристик, ультрамикроскопических особенностей CA1 и CA3 областей гиппокампа крыс и уровня экспрессии маркера астроцитов - кислого глиального фибриллярного белка (GFAP) в условиях интраназального введения НЧ TiO₂. Использованы гистологические, иммуногистохимические и электронно-микроскопические методы исследования. Установлено, что на фоне интраназального введения НЧ TiO₂ в полях CA1 и CA3 гиппокампа развиваются дегенеративные изменения нейронов и астроглиоз. Электронно-микроскопическое исследование выявило признаки повреждения энергетического и белоксинтетического аппаратов нейронов. Результаты проведенного исследования позволили сделать вывод о том, что НЧ TiO₂ оказывают нейротоксический эффект на структурные характеристики гиппокампа крыс при интраназальном введении.

Ключевые слова: наночастицы диоксида титана, гиппокамп крысы, астроциты, GFAP

Summary: Due to the wide production and use of titanium dioxide nanoparticles (NP TiO₂), which have toxic effects, the risk of their adverse effect on the functions of human body's various systems and, primarily, nervous, increases because of its extremely high sensitivity to any damaging agents. Objective: to study the structural characteristics, ultramicroscopic features of the rat hippocampus CA1 and CA3 regions, and the level of the astrocyte marker - acid glial fibrillar proteins (GFAP) expression under intranasal administration of NP TiO₂. Histological, immunohistochemical and electron-microscopic methods were used. It was established that against the background of intranasal administration of NP TiO₂ in the CA1 and CA3 regions of the hippocampus, degenerative changes in neurons and astrogliosis develop. Electron-microscopic examination revealed signs of damage to the energy and protein-synthesizing apparatus of neurons. The results of the study made it possible to conclude that NP TiO₂ have a neurotoxic effect on the structural characteristics of the rat hippocampus in intranasal administration.

Key words: titanium dioxide nanoparticles, rat's hippocampus, astrocyte, GFAP

Введение. Наночастицы (далее - НЧ) металлов с размерами частиц в диапазоне от 1 до 100 нм обладают своеобразными физическими и химическими свойствами, благодаря которым они широко используются в различных сферах производства, в том числе для улучшения качества многих промышленных, фармацевтических и медицинских изделий. Очень высокая удельная поверхность в расчете на единицу массы, а, следовательно, высокая реакционная способность и небольшие размеры НЧ могут придавать им нежелательные, в том числе и токсические свойства за счет индукции образования активных форм кислорода, а также возможности беспрепятственного прохождения через биологические мембраны. Так, результаты исследований *in vivo* показали, что при различных способах введения животным НЧ проходят через гистогематические барьеры и проникают в большинство органов организма, вызывая их повреждение [1-2]. Показано, что такие НЧ при введении их беременным самкам мышей преодолевают плацентарный барьер и обнаруживаются в мозге плода, вызывая нейротоксические дефекты развития [3].

Хорошо известно, что нервная ткань является наиболее восприимчивой к разнообразным воздействиям и очень уязвимой для аккумулированных наночастиц [4], а любые длительные нарушения функционального состояния мозга в некоторых случаях могут быть необратимыми. По мнению ряда исследователей [4, 5] в центральной нервной системе (далее – ЦНС) НЧ индуцируют окислительный стресс, апоптоз, аутофагию, усиливают воспалительные реакции, нарушают синтез нейротрансмиттеров, вызывают повреждение клеточных органелл нейронов и глиальных клеток, что, в конечном счете, приводит к дисфункции мозга. Вот почему контакт с НЧ является потенциальной угрозой для тканей мозга человека. Однако клеточные механизмы, лежащие в основе нейротоксичности НЧ, до сих пор во многом остаются неясными.

Среди большого числа используемых в настоящее время наноматериалов пристальное внимание привлекают к себе НЧ диоксида титана (далее - TiO₂). Они обладают рядом потребительских достоинств, связанных с хорошей фотокаталитической активностью, высокой химической и термической стабильностью и невысокой стоимостью. Быстрый рост числа публикаций о токсическом воздействии НЧ TiO₂ на различные органы и ткани подтверждает высокий уровень

интереса исследователей к их биологической безопасности. Так, показано, что НЧ TiO_2 легко проникают в организм мышей при их вдыхании, после чего накапливаются в головном мозге и обнаруживаются преимущественно в гиппокампе (поля CA1 и CA3) и коре [3], где у них появляется возможность прямого контакта с различными клетками ЦНС. Как уже отмечалось выше, наночастицы TiO_2 индуцируют образование активных форм кислорода в гиппокампе [3], а так как нейроны являются наиболее уязвимыми из клеток нервной ткани к действию свободных радикалов, то это приводит в них к развитию окислительного стресса, который регистрируется во многих областях мозга и, по-видимому, оказывается фактором, способствующим развитию ряда нейродегенеративных заболеваний. В конечном итоге это приводит к нарушению пространственной памяти и эмоционального поведения животных, подвергшихся действию этих НЧ [5-6]. Если же говорить о мозге в целом, то гиппокамп, ответственный за обучение, память и пространственную ориентацию, является одной из наиболее уязвимых структур. Нейроны гиппокампа в большей степени по сравнению с клетками других регионов головного мозга чувствительны к действию различных неблагоприятных факторов [7-8]. Однако причины такой уязвимости к воздействию НЧ TiO_2 различных клеточных типов гиппокампа и механизмы его повреждения до конца не исследованы.

Цель исследования – изучить нейротоксическое действие наночастиц диоксида титана на структурные характеристики, ультрамикроскопические особенности нейронов и уровень экспрессии маркера астроцитов – кислого глиального фибриллярного белка (далее - GFAP) в полях CA1 и CA3 гиппокампа крыс в условиях интраназального введения.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись половозрелые самцы крыс линии Wistar массой 170-210 г (n=20). Животных контрольной (n=9) и опытной групп (n=10) содержали в одинаковых условиях вивария на стандартном сбалансированном рационе, при свободном доступе к воде и пище. Все манипуляции с животными выполнялись согласно приказу МЗ СССР «О гуманном обращении с экспериментальными животными» № 755 от 12 августа 1977 г. в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Исследование одобрено Локальным Этическим комитетом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук (протокол № 2 от 25.04.2016). Изучение влияния НЧ TiO_2 (рутильная форма, 40-60 нм, 10 мг/кг веса животного) на структурные характеристики и ультрамикроскопические особенности нейронов гиппокампа крыс проводили после интраназального введения крысам в течение 30 дней.

Для гистологического и иммуногистохимического анализа мозг фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили фронтальные срезы толщиной 5–6 мкм (микротом LEICA 4RM 2145, Германия), окрашивали крезилом фиолетовым по Нисслию. Исследование областей CA1, CA3 гиппокампа контрольной и опытной групп животных осуществляли с помощью светового микроскопа Leica DMD 108 (Германия) со специализированным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения. Подсчитывали основные морфометрические параметры – плотность нейронов на $0,001 \text{ мм}^3$, средние площади ядра и перикариона нейронов. Выявление маркера глиальных клеток кислого глиального фибриллярного белка (GFAP) осуществлялось с помощью иммуногистохимического метода, согласно протоколу производителя с использованием мышиных моноклональных антител (Santa Cruz Biotechnology, США) и универсальной системы вторичной детекции для визуализации. Окрашивание производили в гистостейнере Leica Bond Max (Leica, Германия). Срезы докрасивали гематоксилином и заключали в бальзам. Измеряли площадь (в мкм^2), занимаемую экспрессированным GFAP в одном поле зрения при увеличении в 400 раз (удельная площадь иммунопозитивных клеток, %). Микрофотографирование клеточных элементов производили, используя микроскоп Axiolmager Z1, оснащенный фотонасадкой ProgRes C3 и программой анализа изображений Axiovision Release 4.6 (Carl.Zeiss, Германия).

Для электронно-микроскопического изучения под контролем микроскопа МБС-10 (ЛОМО, СПб, Россия) у животных был выделен гиппокамп (n=12). Кусочки тканей фиксировали в растворе 2,5% глутарового альдегида на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,2-7,4) с дофиксацией в 1% растворе OsO_4 , обезвоживали и заливали в смесь смол Эпон-812 по общепринятой методике. Ультратонкие срезы, полученные с помощью ультратома EM UC 7 (Leica, Германия), контрастировали 2% водным раствором уранилацетата и раствором цитрата свинца по Рейнольдсу (Reynolds, 1963), изучали в трансмиссионном микроскопе «JEM-1011» (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ. На микрофотографиях проводили анализ структуры нейронов.

Статистическую обработку данных производили в пакете прикладных программ STATISTICA V.7.0 («Statsoft Inc», США). Анализ соответствия вида распределения количественных признаков закону нормального распределения проводили с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение признаков в группах являлось нормальным, сравнительный анализ групп проводился с помощью параметрических методов (t-критерий Стьюдента). Количественные данные представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – выборочное среднее, σ – стандартное отклонение. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. При исследовании препаратов, окрашенных по методу Ниссля установлено, что в гиппокампе интактных животных сохраняется топография клеточных слоев и зон, характерная для этой структуры (рис. 1, I-A). Пирамидный слой зоны CA1 гиппокампа у таких животных представляет собой область плотно расположенных нейронов традиционной пирамидной формы, в которых четко визуализируются ядро и ядрышко. Глиальные клетки располагались чаще по периферии пирамидного слоя и реже встречались среди плотно расположенных нейронов. При изучении поля CA3 гиппокампа контрольной группы животных выявлено, что основные клеточные элементы были хорошо выражены (рис. 1, II-A). Определялись крупные, редко расположенные нейроны с четко выраженными контурами ядра и ядрышка. Хорошо прослеживались равномерно распределенные клетки глии. Определяемая визуально разница в плотности расположения и количестве нейронов в данных областях гиппокампа подтверждается данными морфометрического исследования (таблица 1).

В пирамидном слое зоны СА1 гиппокампа крыс на фоне интраназального введения НЧ TiO₂ (рис. 1, I-Б) наблюдались признаки деструктивных изменений, которые выражались появлением полиморфности размеров нейронов, приобретении ими веретеновидной формы, резкой гиперхромии цитоплазмы и отсутствием во многих клетках ядра. Нейроны пирамидного слоя располагались неравномерно, компактность их размещения отсутствовала, между клетками наблюдались пустоты и увеличивалась площадь межклеточного пространства. Кроме того, вокруг нейронов выявлялись очаги глиоза. Наличие структурных нарушений описываемой области гиппокампа экспериментальной группы животных подтверждается и изменениями морфометрических параметров этой структуры мозга. Так, выявлено уменьшение плотности расположения нейронов пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа на 47,45% и снижение средней площади ядра (на 30,89%) и перикариона (на 18,08%) нейронов по сравнению с контрольной группой животных ($p < 0,05$).

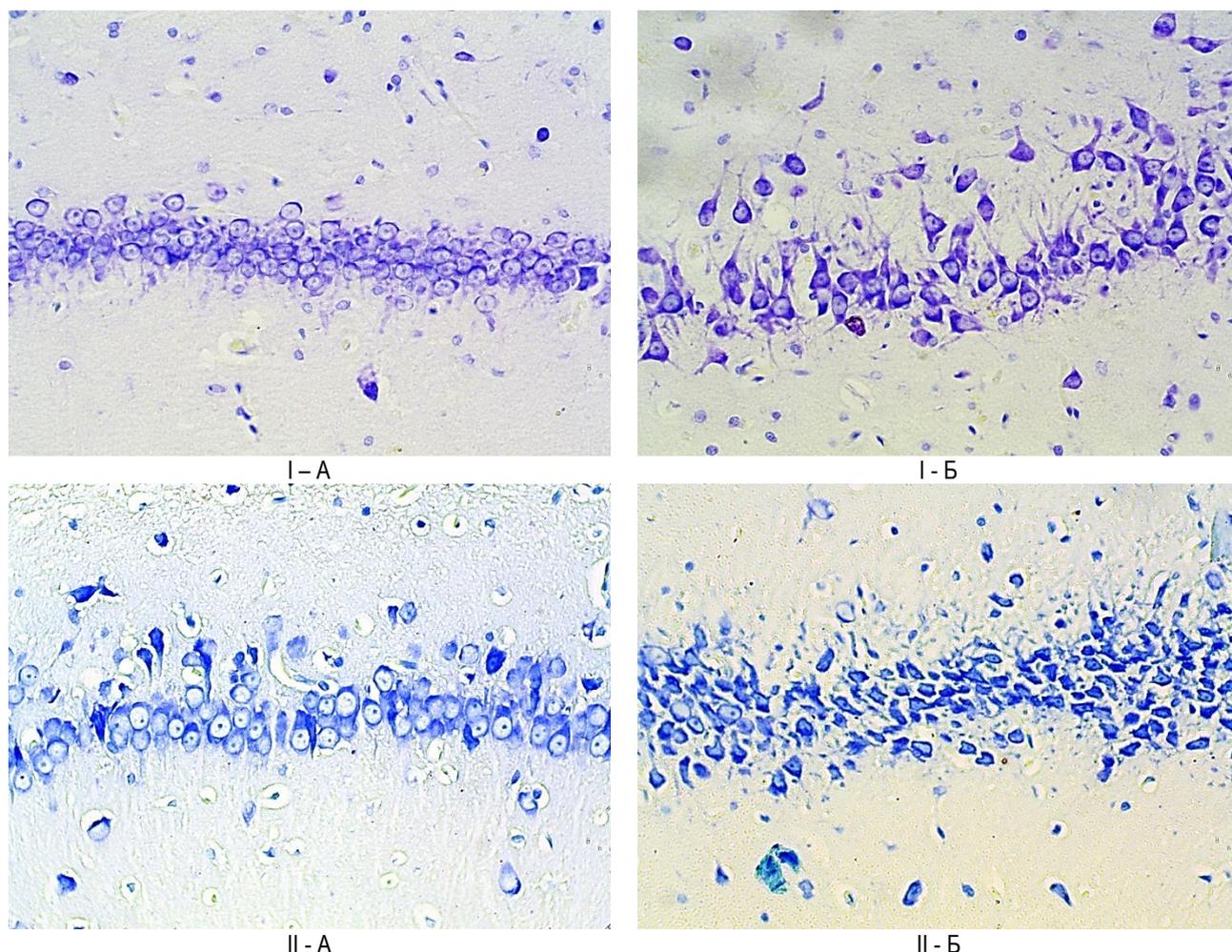


Рис. 1. Пирамидный слой СА1 (I) и СА3 (II) полей гиппокампа крысы контрольной группы (А) и после воздействия НЧ TiO₂ Б). Окраска крезилловым фиолетовым по Нисслю. Ув.: х400.

Таблица 1
Морфометрические параметры пирамидного слоя гиппокампа крыс контрольной группы и после интраназального введения НЧ TiO₂

	контроль		опыт	
	СА1	СА3	СА1	СА3
Плотность нейронов на 0,001 мм ³	136,01±19,45	89,05±16,70	88,56±18,97*	68,42±16,42*
Средняя площадь перикариона нейронов, мкм ²	93,38±15,33	122,57±34,13	76,50±35,77*	66,12±33,28*
Средняя площадь ядра нейронов, мкм ²	55,17±9,7	47,68±9,66	38,13±18,6*	35,95±22,10*
Удельная площадь иммунопозитивных клеток (GFAP), %	4,78±1,35	4,2±1,2	6,65±1,81*	12,2±2,33*

Примечание: * - статистически значимые различия по сравнению с контролем ($p < 0,01$).

В пирамидном слое зоны СА3 гиппокампа крыс опытной группы отмечается значительное увеличение количества нейронов с признаками дегенерации (Рис.1-II Б), большинство из которых приобретали вытянутую веретеновидную форму и содержали темное пикнотическое ядро с неравномерным распределением хроматина и отсутствием ядрышка. Выявлены нарушения citoархитектоники пирамидного слоя, заключающиеся в исчезновении нейронов в ряде участков и снижении

удельной плотности их расположения на 20,63% по сравнению с интактными животными. При морфометрическом исследовании области СА3 гиппокампа обнаружено уменьшение средней площади ядра и перикариона нейронов пирамидного слоя относительно контрольной группы животных на 24,6 и 46,06% соответственно.

При исследовании астроцитов полей СА1 и СА3 гиппокампа животных контрольной группы с помощью иммуногистохимического окрашивания антителами к GFAP было обнаружено, что глиальные клетки характеризовались хорошо разветвленной сетью тонких отростков и обычными размерами тела (рис.2-I). У животных опытной группы на основании изучения степени экспрессии GFAP (табл. 1, рис.2-II) выявлено увеличение удельной площади иммунопозитивных клеток на 10% и 18%, соответственно ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации астроцитов.

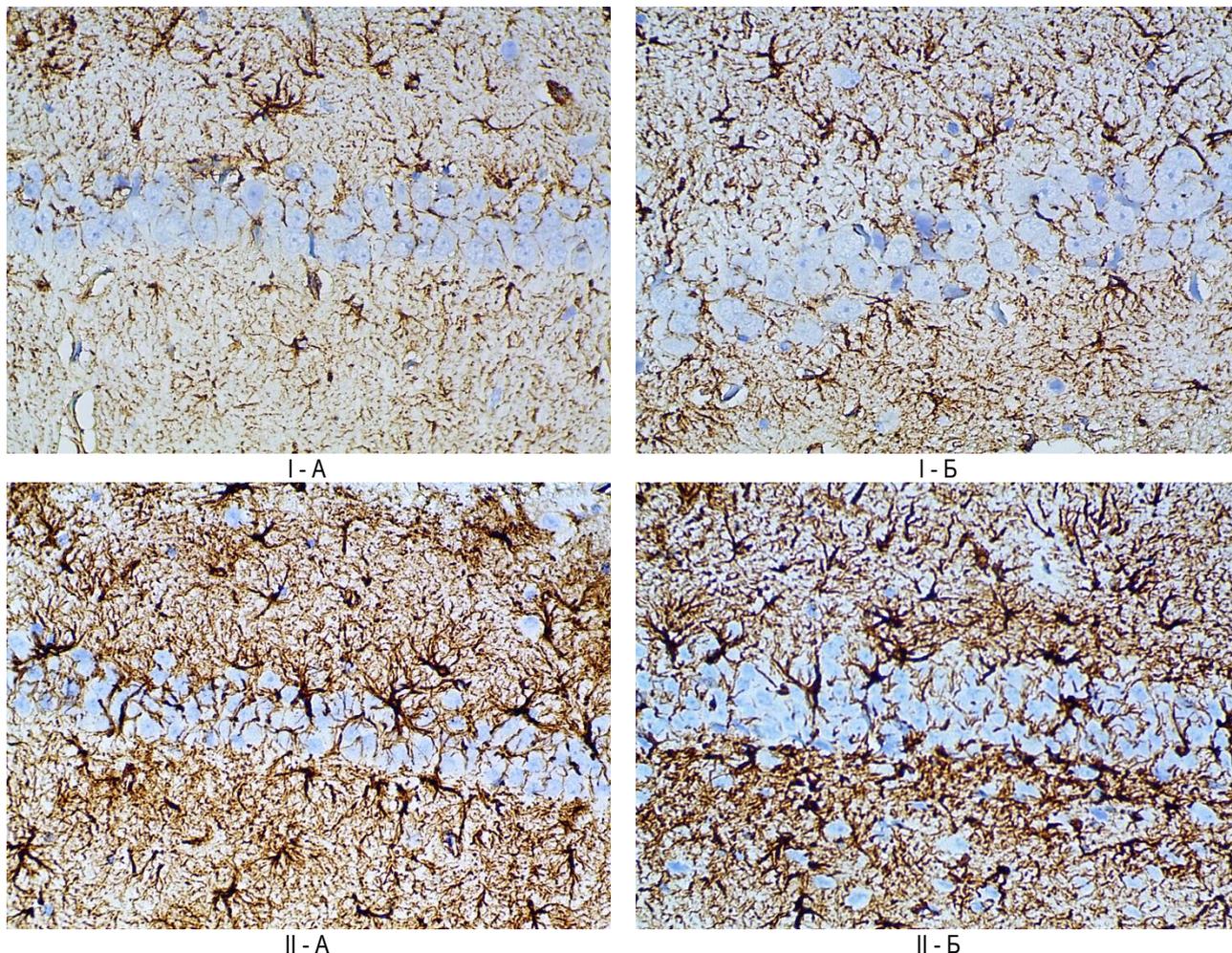


Рис. 2. Экспрессия кислого глиального фибриллярного белка (GFAP) в полях СА1 (I) и СА 3 (II) гиппокампа мозга крыс контрольной группы (А) и после воздействия НЧ TiO_2 (Б). Непрямой иммунопероксидазный метод с подкраской гематоксилином. Ув.: x400.

Увеличение количества GFAP-позитивных клеток в указанных областях гиппокампа у животных в условиях интраназального введения НЧ TiO_2 отражает перестройку цитоскелета глиальных клеток и, как следствие, нарушение архитектоники отростков и межклеточных коммуникаций, из которых наибольшее значение имеют взаимодействия астроцитов с нейронами. Таким образом, иммуногистохимическое окрашивание ткани гиппокампа антителами к GFAP позволило обнаружить реактивные изменения астроцитов, которые рассматриваются в качестве клеточных маркеров различных патологических процессов в тканях ЦНС.

При электронно-микроскопическом изучении полей СА1 и СА3 гиппокампа контрольных крыс и у животных на фоне интраназального введения НЧ TiO_2 были получены данные, характеризующие ультраструктуру пирамидных нейронов. Обнаружено, что суммарный эффект воздействия НЧ TiO_2 - деструктивные изменения в гиппокампе крыс, подвергнутых воздействию изучаемого соединения. В нейронах отмечаются уменьшение содержания рибосом, ультраструктурные изменения митохондрий, заключающиеся в набухании и разрушении их крист, расширение цистерн гранулярной ЭПС, появление вакуолей и значительное число липофусциновых гранул. В этих условиях определяются реактивные перестройки ядерного аппарата: инвагинации ядерной оболочки, расширенное перинуклеарное пространство.

Таким образом, результаты проведенного электронно-микроскопического исследования показали, что НЧ TiO_2 , вызывая структурные нарушения в митохондриях нейронов, приводят к повреждению энергетического аппарата, а резко увеличенный просвет цистерн гранулярной эндоплазматической сети, разрыхление ядерной оболочки и наличие в ней множественных инвагинаций свидетельствует о негативных изменениях в белок-синтетическом аппарате.

Вопросы нейротоксичности НЧ привлекают особое внимание ввиду того, что нейроны, находясь в G₀ стадии клеточного цикла, не обладают выраженной способностью к регенерации, а деструктивные процессы в них, как последствия различных повреждающих действий зачастую являются необратимыми. В рамках этой проблем несомненный интерес представляют клеточные механизмы, лежащие в основе токсического воздействия НЧ металлов. Из наноматериалов в наиболее значительных масштабах используются НЧ TiO₂. Токсичность этих НЧ и молекулярные механизмы их действия на различные ткани организма в последние годы активно изучаются [9-12], однако до сих пор нет полноценной картины последствий их влияния на клетки ЦНС. Так, было показано, что НЧ TiO₂ при их интраназальном введении самкам мышей (80 нм, рутил и 155 нм анатаз; 500 мкг, через день в течение 30 дней), проникали в головной мозг через обонятельный тракт, и накапливались в значительном количестве в коре головного мозга, таламусе, обонятельной луковице и гиппокампе (преимущественно в CA1 и CA3 регионах) [3]. В качестве возможного механизма транслокации НЧ рассматривается их эндоцитоз чувствительными нервными окончаниями эпителия воздухоносных путей, в частности через обонятельный и тройничный нерв. По мнению многих исследователей, обонятельный тракт может быть критическим местом попадания НЧ в ЦНС человека, особенно при их высоких концентрациях в воздухе, например, рабочей зоны при длительном их воздействии, связанном с профессиональной деятельностью. В совокупности указанные выше данные свидетельствуют о проникании НЧ в организм человека и высокой уязвимости к воздействию НЧ ряда структур головного мозга, а для гиппокампа это справедливо даже за короткое время контакта.

Результаты проведенных нами исследований препаратов, окрашенных по методу Ниссля, выявили, что в областях CA1 и CA3 гиппокампа, являющихся основными его регионами, развиваются признаки повреждения нейронов, проявляющиеся в изменении их морфометрических характеристик. Количественный анализ клеточных элементов полей CA1 и CA3 гиппокампа на фоне воздействия НЧ TiO₂ показал снижение плотности упаковки нейронов пирамидного слоя указанных зон экспериментальной группы животных по сравнению с контролем. Кроме того, было выявлено уменьшение площади ядра и перикариона клеток изученных областей гиппокампа опытной группы животных. Обнаруженные нами структурные изменения гиппокампа могут быть объяснены с возможно развивающимся в этой области мозга воспалительным ответом на воздействие НЧ, который, по мнению многих авторов, является еще одним важным механизмом проявления нейротоксичности НЧ TiO₂. Ранее было показано, что НЧ TiO₂ вызывают воспалительный ответ в мозге мышей и повышение уровня воспалительных цитокинов, высвобождаемых клетками активированной микроглии [14]. Причем в этих условиях была обнаружена повышенная пролиферативная активность клеток как макро, так и микроглии и некроз нервной ткани в гиппокампе.

Глиальные клетки давно перестали рассматриваться как пассивные элементы нервной ткани. По мнению многих исследователей одним из маркеров повреждающего действия неблагоприятных факторов и развития патологических процессов в тканях мозга является активация астроглии [7-8, 14]. Реактивные изменения астроцитов проявляются в увеличении размеров как перикариона, так и отростков, активации синтеза ряда белков, в том числе и GFAP. С целью выяснения реакции астроцитарной глии на интраназальное введение НЧ TiO₂, мы провели иммуногистохимическое исследование экспрессии GFAP, маркера промежуточных филаментов. Выявленное нами увеличение числа GFAP-позитивных клеток в зонах CA1 и CA3 гиппокампа крыс, подвергнутых воздействию НЧ TiO₂, свидетельствует об увеличении числа реактивных астроцитов. Эффекты активации астроцитарной глии в указанных областях гиппокампа у животных опытной группы отражают перестройку цитоскелета глиальных клеток и, как следствие, нарушение архитектоники отростков и межклеточных коммуникаций, из которых наибольшее значение имеют взаимодействия астроцитов с нейронами. Нейропротекторная функция астроцитов проявляется, в том числе, способностью восстанавливать целостность ГЭБ, осуществлять защиту от окислительного стресса за счет синтеза глутатиона, продуцировать как противовоспалительные цитокины, так и гормоны воспаления, что показано при различных видах повреждения ЦНС [15]. Кроме того, астроциты при выраженных реактивных изменениях формируют глиальные рубцы, тем самым ограничивая зону распространения воспалительного процесса, некрозов и аутоиммунного поражения. Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о том, что глиальные изменения являются значительной частью комплексных токсических проявлений в мозге, связанных с воздействием изученных НЧ. Основываясь на данных об экспрессии GFAP при интраназальном введении НЧ TiO₂, можно предположить, что реактивные изменения астроцитов в гиппокампе необходимы как для поддержания жизнедеятельности нейронов, так и для купирования негативных последствий активации микроглии, поскольку астроцитарные изменения, как правило, рассматриваются как вторичные по отношению к активации микроглии.

Полученные нами результаты электронно-микроскопических исследований хорошо согласуются с уже известными литературными данными и подтверждают накопление НЧ TiO₂ в гиппокампе мозга крыс при их интраназальном введении. Они вызывают критические повреждения энергетического и белоксинтезирующего аппаратов нейронов. Аналогичные данные о нарушении структуры митохондрий на фоне воздействия НЧ TiO₂ ранее были получены для клеток микроглии [16]. Установлено, что указанные НЧ вызывают повышение генерации активных форм кислорода в этих клетках, изменение электрогенных характеристик мембраны митохондрий с последующим увеличением доли маркеров апоптоза Bax/Bcl-2, что указывает на уже хорошо известную сопряженность процессов нарушения функционирования митохондрий и вероятностью вступления клеток в апоптоз [17].

В совокупности выявленное нами увеличение экспрессии GFAP наряду с резким увеличением числа поврежденных пирамидных нейронов и уменьшение их числа позволяет заключить о развитии атрофических изменений в полях CA1 и CA3 гиппокампа, сопровождаемых активацией астроцитов и нарушением нейроглиального соотношения при воздействии НЧ TiO₂. Уменьшение же среднего числа нейронов, обнаруженного нами при количественной оценке изученных областей гиппокампа крыс, возможно связано с гибелью клеток в результате запрограммированной клеточной гибели, что согласуется с результатами исследований Sheng и др. [18], которые показали, что НЧ TiO₂ вызывают апоптоз в нейронах гиппокампа крыс.

Заключение. Таким образом, можно заключить, что деструктивные изменения различных клеток гиппокампа при интраназальном введении НЧ TiO₂ происходят за счет индукции оксидативного стресса, апоптоза, повреждения ряда органоидов клеток, появления воспалительных реакций. Указанные механизмы влияния изученных НЧ несомненно находят отражение в обнаруженных нами макроструктурных изменениях гиппокампа крыс, заключающихся в снижении удельной плотности расположения пирамидных клеток, уменьшении площади ядра и перикариона нейронов, повреждении их энергетического и белоксинтезирующего аппаратов, появлении глиального рубца.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Lin Z, Monteiro-Riviere NA, Riviere JE. Pharmacokinetics of metallic nanoparticles. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.* 2015;2:189-217.
2. SHarafutdinova LA, KHismatullina ZR, Bashkatov SA. Vliyanie nanochastits dioksida titana na morfologicheskie kharakteristiki pecheni krysa. *Morfologiya.* 2016;149(3):235-236.
3. Wang J, Liu Y, Jiao F et al. Time-dependent translocation and potential impairment on central nervous system by intranasally instilled TiO₂ nanoparticles. *Toxicology.* 2008;254:82–90. doi: 10.1016/j.tox.2008.09.014.
4. Feng XL, Chen AJ, Zhang YL, Wang JF, Shao LQ, Wei LM. Central nervous system toxicity of metallic nanoparticles. *Int J Nanomed.* 2015;10:4321–4340.
5. Mushtaq G, Khan JA, Joseph E, Kamal MA. Nanoparticles, Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Curr Drug Metab.* 2015;16(8):676-84.
6. Songo B, Liu J, Feng X, Wi L, Shao L. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles. *Nanoscale res Lett.* 2015;10(1):1042.
7. Smirnov AV, SHmidt MV, Menikov DS et al. Peculiarities of structural changes in the hippocampal pyramidal layer of rats during gravitational action in the caudo-cranial vector, taking into account the expression of GFAP. *ZHurnal anatomii i gistopatologii.* 2017;6(2):75-82.
8. Tishkina AO, Novikova MR, Stepanichev MYU et al. Change in the expression of astroglia and microglia markers in the rat hippocampus when adapting to chronic stress. *Effects of panthenol. Neirohimiya.* 2013;30(2):158-167.
9. Sharafutdinova LA, Khismatullina ZR, Daminov MR, Valiullin VV. The study of embryotoxic effect of titanium dioxide nanoparticles on rats. *Morfologicheskie Vedomosti –Morphological Newsletter.* 2017;25(3):37-42.
10. Mikheeva NA, Ryzhova MV, Nikiforov RV et al. Pronitsaemost' gematoplatsentarnogo bar'era belykh krysa dlya zolotykh nanochastit. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal.* 2011;10(4):113-127.
11. Tsyganova NA, Khayrullin RM, Terentyuk GS, et al. Pronitsaemost' pegilirovannykh zolotykh nanochastits cherez gematoplatsentarnyy bar'er krysa// *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2014;15 (3): 366-369.
12. Syed NS, Zahir S, Muzammal H, Muzaffar K. Hazardous Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles in Ecosystem// *Bioinorganic Chemistry and Applications.* 2017. Article ID 4101735, 12 pagesdoi.org/10.1155/2017/4101735
13. Ze Y, Sheng L, Zhao X et al. TiO₂ nanoparticles induced hippocampal neuroinflammation in mice. *PLoS ONE.* 2014;9(3). doi:10.1371/journal.pone.0092230
14. [Muhamedshina YAO, Povysheva TV, Nigmatzyanova MV, et al. Astrocytes and microglia of the mouse spinal cord under conditions of support of unloading of the hind limbs. *Doklady akademii nauk.* 2014;456 (1):114–116.
15. Kolomeec N.S, Uranova NA. Modern ideas of reactivity of astrotsit at schizophrenia. *ZHurnal nevrologii i psihiatrii.* 2014;5:92-99.
16. Yu KN, Yoon TJ, Minai-Tehrani A. Zinc oxide nanoparticle induced autophagic cell death and mitochondrial damage via reactive oxygen species generation. *Toxicol In Vitro.* 2013;27(4):187–1195.
17. Huerta-Garcia E, Perez-Arzi JA, Marquez-Ramirez SG. Titanium dioxide nanoparticles induce strong oxidative stress and mitochondrial damage in glial cells. *Free Radical Biol Med.* 2014;73:84–94.
18. Sheng L, Ze Y, Wang L et al. *J Biomed Mater Res, Part A.* 2015;103:1141–1149. doi: 10.1002/jbm.a.35263.

Авторская справка

Шарафутдинова Люция Ахтямовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии и общей биологии биологического факультета, Башкирский государственный университет, Уфа, Россия; e-mail: sharafli@yandex.ru
Валиуллин Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры гистологии, Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия; e-mail: valvv@kcn.ru