

НЕЙРОБИОЛОГИЯ/NEUROSCIENCE

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.91>

ВЛИЯНИЕ НЕОНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДИОКСИДА ТИТАНА НА ИЗМЕНЕНИЕ ДВИГАТЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВ В НЕОКОРТЕКСЕ ВЗРОСЛОЙ БЕЛОЙ МЫШИ

Научная статья

Худякова Н.А.^{1,*}, Непряхина Н.П.²

¹ ORCID : 0000-0001-9193-7306;

² ORCID : 0000-0002-1524-1822;

^{1, 2} Удмуртский государственный университет, Ижевск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (whitemouse3[at]yandex.ru)

Аннотация

Е 171 — пищевая добавка содержащая частицы диоксида титана различного размера (в том числе наночастицы) широко распространена в пищевой промышленности в настоящее время и является потенциально небезопасной для развивающегося мозга ввиду описанного токсического действия на другие системы органов. Поэтому нами проведены острые опыты под общим (Золетил 100) и местным наркозом с целью картирования моторного неокортекса взрослых белых мышей, неонатально получавших пищевую добавку, содержащую диоксид титана — Е171. Обнаружено, что воздействие Е171 на возбудимость неокортекса является значительным — достоверно снижается возбудимость лицевых двигательных ответов по сравнению с двигательными ответами мышц конечностей. Также отмечено сокращение площади двигательных представительств вибрисс и верхней губы, отмечена инверсия межполушарной асимметрии в расположении двигательного представительства мышц нижней челюсти. Функциональные перестройки моторного неокортекса связываются авторами с воздействием наночастиц диоксида титана, присутствующих в пищевой добавке на дофаминергическую медиаторную систему головного мозга. Делается вывод о потенциальной опасности пищевой добавки Е171 для развивающегося организма млекопитающих ввиду стойких функциональных перестроек и изменения возбудимости коры головного мозга, сохраняющихся при взрослении у модельных животных — белых мышей.

Ключевые слова: диоксид титана, двигательные представительства, постнатальное развитие моторной коры, токсичность пищевой добавки Е171.

INFLUENCE OF NEONATAL EXPOSURE TO TITANIUM DIOXIDE ON CHANGES IN MOTOR REPRESENTATIONS IN THE NEOCORTEX OF THE ADULT WHITE MOUSE

Research article

Khudyakova N.A.^{1,*}, Nepryakhina N.P.²

¹ ORCID : 0000-0001-9193-7306;

² ORCID : 0000-0002-1524-1822;

^{1, 2} Udmurt State University, Izhevsk, Russian Federation

* Corresponding author (whitemouse3[at]yandex.ru)

Abstract

Е 171 — food additive containing titanium dioxide particles of various sizes (including nanoparticles) is widespread in the food industry nowadays and is potentially unsafe for the developing brain due to the described toxic effects on other organ systems. Therefore, we performed acute experiments under general (Zoletil 100) and local anaesthesia to map the motor neocortex of adult white mice neonatally treated with a food additive containing titanium dioxide, E171. The effect of E171 on neocortex excitability was found to be significant — there was a significant decrease in the excitability of facial motor responses compared to the motor responses of limb muscles. The reduction of the area of motor representations of vibrissae and upper lip was also noted, inversion of interhemispheric asymmetry in the location of motor representations of mandibular muscles was noted. The authors attribute the functional rearrangements of the motor neocortex to the effect of titanium dioxide nanoparticles present in the food supplement on the dopaminergic mediator system of the brain. The conclusion is made about the potential danger of food additive E171 for the developing organism of mammals due to persistent functional rearrangements and changes in the excitability of the cerebral cortex that persist during adulthood in model animals — white mice.

Keywords: titanium dioxide, motor representations, postnatal development of motor cortex, toxicity of food additive E171.

Введение

Пищевая добавка Е171, представляющая собой тонкодисперсный диоксид титана очень широко распространена в быту. С помощью данного вещества окрашивают лекарства, кондитерские изделия, конфеты, мороженое, жевательную резинку и другие пищевые продукты, имеющие белый цвет. Данные категории продуктов используют беременные женщины и дети.

Относительно безопасности добавки и моделирования эффектов ее воздействия на животных единого мнения пока нет. Некоторые ученые до сих пор считают, что наночастицы диоксида титана не попадают в мозг взрослых животных [9] и развивающихся плодов [4]. Более многочисленная группа ученых считает иначе. Показано, например, что

частицы диаметром более 200 нм не вызывают повреждения головного мозга, тогда как наночастицы меньшего диаметра успешно проходят через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и вызывают дозозависимое повреждение у взрослых [5] и развивающихся животных [11] вне зависимости от пути поступления наночастиц диоксида титана в организм. Если использовать в качестве модели воздействия данного вещества на детский мозг неонатальных мышат, то преимущество такой модели составляет то, что проницаемость ГЭБ у мышей 1–7 суток после рождения остается высокой [10]. Таким образом, целью нашего исследования является фиксация изменения возбудимости моторного неокортекса и расположения корковых двигательных представительств у белой мыши при неонатальном воздействии пищевой добавки, содержащей диоксид титана. Расположение двигательных представительств и возбудимость моторного неокортекса нелинейных развивающихся и взрослых белых мышей в норме исследована ранее [6], [7], что дает возможность сравнить полученные нами данные по расположению корковых двигательных представительств (ДП) и пороговым токам двигательных ответов (ДО) с нормальным ходом постнатального онтогенеза коры мозга.

Методы и принципы исследования

Для оценки влияния диоксида титана на расположение двигательных представительств у белых мышей осуществляли инъекцию белого пищевого красителя Artcolor (E171, производство г. Ижевск) подкожно в дозе 100 мкг/кг двукратно в возрасте 2 и 5 дней после рождения. Далее мышата содержались с матерью до 21 дня, после этого — в отдельной домашней клетке на стандартном корме для лабораторных животных.

Расположение двигательных представительств оценивали у взрослых белых мышей при помощи методики внутрикорковой микростимуляции (ВКМС). Наркоз проводили препаратом Золетил 100 в дозе 70 мг/кг. Производили скальпирование и двустороннюю краниотомию кпереди и назад от брегмы при подкожной анестезии 0,5% новокаином. Череп жестко фиксировали зубным цементом к кронштейнам стереотаксического аппарата. Туловище подвешивали в эластичном гамачке. Для ВКМС использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 1,5 М цитратом натрия, с кончиками, обломленными под микроскопом до диаметра 4–8 мкм и сопротивлением 1,0 МОм.

Для ВКМС использовались короткие серии прямоугольных импульсов длительностью 0,4 мс, частотой 300–400 имп/с, по 7 импульсов в пачке, интенсивностью тока не более 80 мА. Шаг погружения микроэлектрода составлял 0,5 мм. Остальные детали методики подробно описаны [7]. Для каждого животного строилась серия индивидуальных карт расположения двигательных представительств, измерялись площади двигательных представительств, различия между которыми оценивали при помощи критерия знаков. Также были построены суммационные карты для каждого типа ДО по результатам 8 острых опытов, представленные на Рис. 1 и 2. При построении карт за начало координат принималась точка пересечения сагиттального шва и брегмы. Достоверность различий пороговых токов, необходимых для вызова разного рода ДО, оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона.

Основные результаты

При неонатальном подкожном введении мышатам пищевой добавки E171, содержащей диоксид титана, гибели животных не отмечалось, отставания в физическом развитии также не было отмечено. Взрослые животные имели массу 20–25 г. При использовании методики ВКМС на 8 животных нами были получены двигательные ответы (ДО) мышц передних и задних конечностей, верхней губы, вибрисс, нижней челюсти, века, ушных и хвостовых мышц.

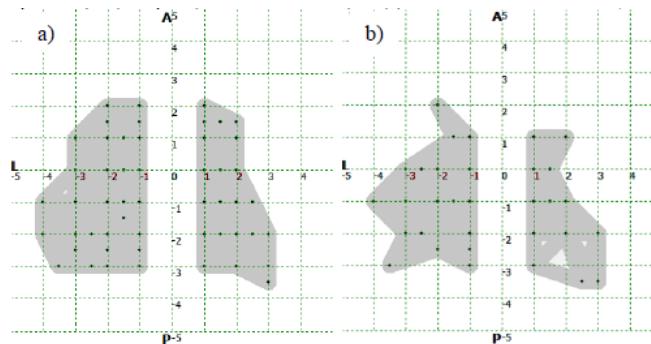


Рисунок 1 - Расположение двигательных представительств мышц передних конечностей (a) и мышц задних конечностей (b) в моторном неокортексе белых мышей при неонатальном воздействии диоксида титана
(суммационные карты по результатам 8 опытов)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.91.1>

Примечание: составлено авторами

Результаты обнаружения ДО мышц передних и задних конечностей представлены на Рис.1. ДП мышц передних конечностей занимают область от $A=2,2$ мм ростральное брегмы до $P=3,2-3,8$ мм каудальное брегмы в обоих полушариях, что не согласуется с данными, полученными для интактных животных [7] и является расширением данного ДП как рострально, так и каудально на 1,0–2,5 мм. Границы ДП мышц задних конечностей представлены на Рис. 1b и располагаются от $A=2,2-1,2$ мм ростральное до $P=3,2-3,8$ мм каудальное брегмы. Граница данного ДП также расширена в ростральном направлении на 2–3 мм, тогда как каудальная граница расположена в аналогичной области, что и у животных без воздействия [7].

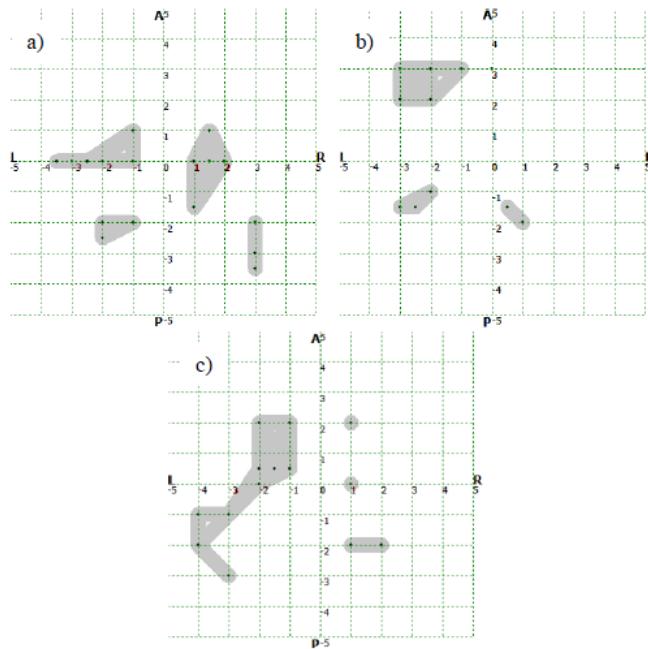


Рисунок 2 - Расположение двигательных представительств мышц верхней губы (a), вибрисс (b) и нижней челюсти (c) в моторном неокортексе белых мышей при неонатальном воздействии диоксида титана (суммационные карты по результатам 8 опытов)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.91.2>

Примечание: составлено авторами

На Рис. 2 представлены ДП лицевых мышц. ДП мышц верхней губы располагается в обоих полушариях относительно симметрично. ДП мышц нижней челюсти имеет большую площадь в левом полушарии, а в правом отмечаются только единичные треки вызова ДО. ДП лицевых вибрисс в правом полушарии располагается только каудальнее уровня брегмы. Обращает на себя внимание каудально расположенные области вызова ДО лицевых мышц. В норме [7] ДП лицевых мышц всегда располагаются ростральнее брегмы, наблюдается межполушарная асимметрия в расположении лицевых ДП: двигательные представительства мышц лицевых вибрисс и верхней губы имеют больший размер в левом полушарии, а ДП мышц нижней челюсти преобладает по площади в правом полушарии. Таким образом, при неонатальном подкожном введении пищевой добавки, содержащей диоксид титана у взрослых белых мышей обнаружено расширение ДП мышц конечностей, смещение ДП мышц вибрисс и верхней губы в каудальном направлении и инверсия межполушарной асимметрии ДП мышц нижней челюсти. Все обнаруженные аномалии сопровождаются изменением возбудимости моторного неокортекса, что представлено на Рис. 3.

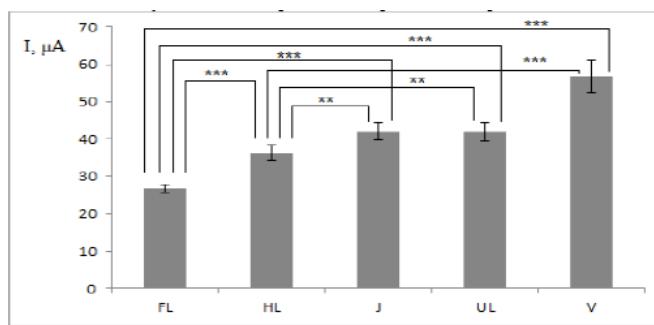


Рисунок 3 - Пороговые токи, необходимые для получения двигательных ответов лицевых и соматических мышц из моторного неокортекса белых мышей при неонатальном воздействии диоксида титана

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.155.91.3>

Примечание: составлено авторами; FL – мышц передней конечности, HL – задней конечности, J – челюсти, UL – верхней губы, V – вибрисс; ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$

Как видно из Рис. 3, наименьшими пороговыми токами характеризуются ДО мышц передних конечностей ($26,6 \pm 1,1$ мА, $n=216$) которые были достоверно ($p<0,001$) ниже, чем пороговые токи ДО мышц задних конечностей ($36,1 \pm 2,1$ мА, $n=110$) и ДО лицевых мышц.

Обсуждение

В настоящем исследовании обнаружено расширение ДП мышц конечностей, смещение ДП мышц вибрисс и верхней губы в каудальном направлении и инверсия межполушарной асимметрии ДП мышц нижней челюсти. Можно отметить, что это существенный комплекс изменений относительно нормального расположения ДП у белой мыши описанного И.В. Проничевым [7]. Такие глобальные изменения организации лицевых ДП при воздействии исследуемой нами пищевой добавки могут быть связаны с как с неонатальной гипоксией, вызываемой диоксидом титана, так и другими механизмами воздействия этого вещества. Диоксид титана действительно вызывает гипоксические изменения ткани мозга, оксидативный стресс [13], приводящие к истощению горы головного мозга, дисплазии отростков нервных клеток [3] и дисфункции синапсов [8]. Однако такие механизмы неизбежно вызвали бы изменение возбудимости всей моторной коры и отразились бы на пороговых токах всех исследуемых ДО. Тем не менее настоящее исследование отмечает практически нормальную возбудимость моторного неокортика для ДО мышц передней конечности, сниженную для ДО мышц задней конечности и достоверно ($p<0,001$) сниженную возбудимость для ДО всех лицевых мышц. Не одинаковое снижение возбудимости моторного неокортика для вызова ДО мышц конечностей и лицевых мышц может быть связано с воздействием диоксида титана на дофаминергическую систему.

При воздействии диоксида титана увеличивается содержание дофамина и его метаболитов в префронтальной коре и стриатуме развивающихся животных [9]. Дофамин модулирует активность моторной коры при помощи рецепторов D1 и D2. Активация рецептора D2 возбуждает моторную кору, увеличивает количество спайков пирамидных нейронов, ингибирует ГАМК — интернейроны [14], и все это, по-видимому, приводит к расширению ДП мышц конечностей. Наибольшее расширение отмечено для ДП мышц передней конечности, так как дофаминергическая система иннервирует глубокие слои моторного неокортика и ее волокна нацелены у мышей именно на ДП мышц передних конечностей [12]. Таким образом, диоксид титана повышая уровень дофамина в префронтальной коре усиливает процессы возбуждения и уменьшает процессы торможения в ней.

Поскольку выведение частиц диоксида титана из мозга ограничено [1], то при поступлении вещества даже в незначительных дозах наступает накопление. По-видимому, двукратное введение диоксида титана мышатам в возрасте 1 и 5 дней после рождения сохраняет эффект воздействия на протяжении — как минимум — первых 10 дней раннего постнатального онтогенеза. Десятидневное возбуждающее действие диоксида титана дает возможность ДП мышц передних, задних конечностей и нижней челюсти расширить границы, а нервным сетям, образующим эти ДП сформироваться и сохранить большее количество элементов при последующем развитии.

ДП мышц лицевых вибрисс и верхней губы формируются у белой мыши после 10 дня раннего постнатального онтогенеза [6], когда активация дофаминергической медиаторной системы диоксидом титана снижается. Следовательно, данные ДП имеют меньшую площадь и формируются аномально, их нервные сети содержат меньшее количество элементов, они менее возбудимы, что и приводит к повышению пороговых токов этих ДО.

По данным современных исследователей диоксид титана накапливается в нервных клетках и вызывает окислительный стресс, апоптоз, воспалительные реакции, генотоксичность, нарушения синтеза нейротрансмиттеров, синаптической пластичности, метилирования ДНК, что приводит к нейротоксичности [19].

Нами рассматривается влияние диоксида титана при его подкожном введении экспериментальным животным. При данном способе поступления в кровь попадает значительное его количество. В условиях поступления диоксида титана с пищевой добавкой реальному потребителю большая его часть поступает в кровь из кишечника с пищей и лекарствами, что нарушает деятельность кишечной микрофлоры [15], снижают доступность для переваривания белков пищи [16], имеет выраженную токсичность для эпителиальных клеток кишечника [18]. Диоксид титана также в значительных количествах проходит сквозь кишечный барьер [18], что привело к запрету использования Е171 во многих странах [18] с 2020 года. Тем более, что в большинстве продуктов питания эта пищевая добавка может быть замена на нетоксичные альтернативные красители [17].

Заключение

Несмотря на отсутствие летальных исходов у экспериментальных животных при применении пищевой добавки Е171, содержащей диоксид титана можно заключить, что ее воздействие привело к достоверному изменению возбудимости моторного неокортика, изменению площади и расположения двигательных представительств лицевых мышц вибрисс и верхней губы. Отмечено инвертированное асимметричное расположение двигательного представительства мышц нижней челюсти. Описанные изменения позволяют сделать вывод о потенциальной опасности пищевой добавки Е171 для развивающегося мозга млекопитающих ввиду стойких функциональных перестроек и изменения возбудимости коры головного мозга. Поскольку возможность замены Е171 на нетоксичные красители, вырабатываемые промышленностью, имеется, необходимо ограничить использование Е171 непищевыми целями в целях сохранения здоровья потребителя.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Cho W.S. Comparative absorption, distribution, and excretion of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles after repeated oral administration. / W.S. Cho, B.C. Kang, J.K. Lee et al. // Particle and fibre toxicology. — 2013. — 10. — DOI: 10.1186/1743-8977-10-9
2. Fabian E. Tissue distribution and toxicity of intravenously administered titanium dioxide nanoparticles in rats. / E. Fabian, R. Landsiedel, L. Ma-Hock et al. // Archives of toxicology. — 2008. — 82(3). — DOI: 10.1007/s00204-007-0253-y
3. Hong F. Nano-TiO₂ Inhibits Development of the Central Nervous System and Its Mechanism in Offspring Mice.. / F. Hong, Y. Zhou, J. Ji et al. // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2018. — 66(44). — DOI: 10.1021/acs.jafc.8b02952
4. Lee J. Titanium dioxide nanoparticles oral exposure to pregnant rats and its distribution.. / J. Lee, J.S. Jeong, S.Y. Kim et al. // Particle and fibre toxicology. — 2019. — 16(1). — DOI: 10.1186/s12989-019-0313-5
5. Liu Y. Cytotoxicity of titanium dioxide nanoparticles in rat neuroglia cells.. / Y. Liu, Z. Xu, X. Li // Brain injury. — 2013. — 27(7-8). — DOI: 10.3109/02699052.2013.793401
6. Pronichev I.V. The development of facial musculature and extremity motor representations in early postnatal ontogeny of white mouse. / I.V. Pronichev, N.A. Khudiakova // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. — 1996. — 32(4).
7. Pronichev I.V. Functional mapping of the motor cortex of the white mouse by a microstimulation method. / I.V. Pronichev, D.N. Lenkov // Neuroscience and behavioral physiology. — 1998. — 28(1). — DOI: 10.1007/BF02461916
8. Song B. A review on potential neurotoxicity of titanium dioxide nanoparticles.. / B. Song, J. Liu, X. Feng et al. // Nanoscale research letters. — 2015. — 10(1). — DOI: 10.1186/s11671-015-1042-9
9. Takahashi Y. Prenatal exposure to titanium dioxide nanoparticles increases dopamine levels in the prefrontal cortex and neostriatum of mice. / Y. Takahashi, K. Mizuo, Y. Shinkai et al. // The Journal of Toxicological Sciences. — 2010. — 35(5). — DOI: 10.2131/jts.35.749
10. Ugrumov M.V. Developing brain as an endocrine organ: secretion of dopamine. / M.V. Ugrumov, J.Y. Saifetyarova, A.V. Lavrentieva et al. // Molecular and cellular endocrinology. — 2012. — 348(1). — DOI: 10.1016/j.mce.2011.07.038
11. Umezawa M. Effect of fetal exposure to titanium dioxide nanoparticle on brain development — brain region information. / M. Umezawa, H. Tainaka, N. Kawashima et al. // The Journal of Toxicological Sciences. — 2012. — 37(6). — DOI: 10.2131/jts.37.1247
12. Vitrac C. Dopamine control of pyramidal neuron activity in the primary motor cortex via D2 receptors. / C. Vitrac, S. Péron, I. Frappé et al. // Frontiers in neural circuits. — 2014. — 8. — DOI: 10.3389/fncir.2014.00013
13. Wang J. Potential neurological lesion after nasal instillation of TiO₂ nanoparticles in the anatase and rutile crystal phases. / J. Wang, C. Chen, Y. Liu et al. // Toxicology letters. — 2008. — 183(1-3). — DOI: 10.1016/j.toxlet.2008.10.001
14. Xu T.X. D1 and D2 dopamine receptors in separate circuits cooperate to drive associative long-term potentiation in the prefrontal cortex. / T.X. Xu, W.D. Yao // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 2010. — 107(37). — DOI: 10.1073/pnas.1004108107
15. Bietto F. Food-grade titanium dioxide can affect microbiota physiology, adhesion capability, and interbacterial interactions: A study on *L. rhamnosus* and *E. faecium*. / F. Bietto, R. Scardaci, M. Brovia et al. // Food Chem Toxicol. — 2023. — 176. — DOI: 10.1016/j.fct.2023.113760
16. Soliman M.G. Understanding the role of biomolecular coronas in human exposure to nanomaterials. / M.G. Soliman, A. Martinez-Serra, G. Antonello et al. // Environ Sci Nano.. — 2024. — 11. — DOI: 10.1039/d4en00488d
17. Palugan L. What's next in the use of opacifiers for cosmetic coatings of solid dosage forms? Insights on current titanium dioxide alternatives. / L. Palugan, M. Spoldi, F. Rizzato et al. // Int J Pharm.. — 2022. — 616. — DOI: 10.1016/j.ijpharm.2022.121550
18. Bettencourt A. Analysis of the Characteristics and Cytotoxicity of Titanium Dioxide Nanomaterials Following Simulated In Vitro Digestion. / A. Bettencourt, L.M. Gonçalves, A.C. Gramacho et al. // Nanomaterials (Basel). — 2020. — 8. — DOI: 10.3390/nano10081516
19. Zhang X. Neurotoxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles: A Comprehensive Review. / X. Zhang, Y. Song, H. Gong et al. // Int J Nanomedicine. — 2023. — 18. — DOI: 10.2147/IJN.S442801