

Ситников И.А., Шаихова Д.Р., Амромина А.М., Сутункова М.П., Рябова Ю.В., Тажигулова А.В., Рузаков В.О.

Изменение экспрессии генов рецептора NMDA под воздействием наночастиц оксида меди

ФБУН «Екатеринбургский медицинский – научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 620014, г. Екатеринбург, Российская Федерация

Введение. Медь играет важную роль в метаболизме мозга, однако частицы меди нанометрового диапазона могут проявлять нейротоксические свойства и вызывать нарушения работы клеток мозга.

Материал и методы. В течение 6 нед 3 раза в неделю внутрибрюшинно животным вводили суспензию НЧ оксида меди. Определение экспрессии генов *GRIN1*, *GRIN2a* и *GRIN2b*, кодирующих белки GluN1, GluN2a и GluN2b, соответственно проводилось методом ПЦР в реальном времени с зондами.

Результаты. Определено статистически достоверное снижение уровня экспрессии генов, кодирующих белки рецептора NMDA, при воздействии наночастиц CuO 0,5 мг/мл ($\Delta Ct_{(GRIN1)} = 0,813$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)} = 3,477$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)} = 1,37$) в сравнении с контрольной группой ($\Delta Ct_{(GRIN1)} = 6,301$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)} = 7,823$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)} = 4,747$).

Заключение. Оценка уровня экспрессии генов рецептора NMDA может быть использована в качестве генетического маркера для определения токсического действия наночастиц оксида меди, однако необходимы дальнейшие исследования, включающие проведение поведенческих тестов, которые позволили бы подтвердить наличие клинических проявлений нейродегенеративных расстройств.

Ключевые слова: наночастицы; оксид меди; экспрессия генов; рецепторы NMDA

Для цитирования: Ситников И.А., Шаихова Д.Р., Амромина А.М., Сутункова М.П., Рябова Ю.В., Тажигулова А.В., Рузаков В.О. Изменение экспрессии генов рецептора NMDA под воздействием наночастиц оксида меди. *Токсикологический вестник*. 2021; 29(6): 60-66. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-60-66>

Для корреспонденции: Ситников Иван Андреевич, младший научный сотрудник отдела молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «Екатеринбургский медицинский – научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург. E-mail: sitnikovia@ymrc.ru

Участие авторов: Ситников И.А., Шаихова Д.Р., Амромина А.М. – проведение исследования, сбор и обработка материала, написание текста; Сутункова М.П., Рузаков В.О. – концепция и дизайн исследования, написание текста; Рябова Ю.В., Тажигулова А.В. – проведение исследования. Все соавторы – обсуждение результатов, редактирование, утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила в редакцию: 04.10.2021 / Принята в печать: 23.11.2021 / Опубликована: 30.12.2021

Sitnikov I.A., Shaikhova D.R., Amromina A.M., Sutunkova M.P., Ryabova Yu.V., Tazhigulova A.V., Ruzakov V.O.

Effect of copper oxide nanoparticles on gene expression of NMDA receptor

Yekaterinburg Medical Research Center for Prophylaxis and Health Protection in Industrial Workers, Yekaterinburg, 620014, Russian Federation

Introduction. Copper plays an important role in the metabolism of the brain, but particles of copper, in the nanometer range, exhibit neurotoxic properties and cause malfunctioning of brain cells.

Material and methods. For 6 weeks, 3 times a week, the animals were injected with a suspension of NPs of copper oxide. The determination of the expression of the genes *GRIN1*, *GRIN2a*, and *GRIN2b*, encoding the proteins GluN1, GluN2a, and GluN2b, respectively, was carried out by real-time PCR with probes.

Results. A statistically significant decrease in the expression level of genes encoding NMDA receptor proteins was determined when exposed to 0.5 mg/ml CuO nanoparticles ($\Delta Ct_{(GRIN1)} = 0.813$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)} = 3.477$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)} = 1.37$) in comparison with control group ($\Delta Ct_{(GRIN1)} = 6.301$; $\Delta Ct_{(GRIN2A)} = 7.823$; $\Delta Ct_{(GRIN2B)} = 4.747$).

Conclusion. Evaluation of gene expression of the NMDA receptor may be present in a genetic marker to determine the toxic effect of copper oxide nanoparticles; however, further studies are needed, including behavioral tests to confirm the clinical manifestations of neurodegenerative disorders.

Keywords: nanoparticles; copper oxide; gene expression; NMDA receptors

For citation: Sitnikov I.A., Shaikhova D.R., Amromina A.M., Sutunkova M.P., Ryabova Yu.V., Tazhigulova A.V., Ruzakov V.O. Effect of copper oxide nanoparticles on gene expression of nmda receptor. *Toksikologicheskiy vestnik (Toxicological Review)*. 2021; 29(6): 60-66. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-6-60-66> (In Russian)

For correspondence: Ivan A. Sitnikov, Junior Researcher, Department of Molecular Biology and Electron Microscopy, FBRI YMRC PHPIW of Rospotrebnadzor, 620014, Yekaterinburg, Russia. E-mail: sitnikovia@ymrc.ru

Information about the authors:

Sitnikov I.A., <https://orcid.org/0000-0002-4109-9268>
Shaikhova D.R., <https://orcid.org/0000-0002-7029-3406>
Amromina A.M., <https://orcid.org/0000-0001-8794-7288>
Sutunkova M.P., <https://orcid.org/0000-0002-1743-7642>
Ryabova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479>
Tazhigulova A.V., <https://orcid.org/0000-0001-9384-8550>
Ruzakov V.O., <https://orcid.org/0000-0002-8902-0416>

Author contributions: Sitnikov I.A., Shaikhova D.R., Amromina A.M. – conducting research, collecting and processing material, writing text; Sutunkova M.P., Ruzakov V.O. – research concept and design, text writing; Ryabova Yu.V., Tazhigulova A.V. – conducting research. All co-authors – discussion of the results, editing, approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received: October 04, 2021 / Accepted: November 23, 2021 / Published: December 30, 2021

Введение

В связи с глобализацией развития нанотехнологий в настоящее время изучение наноматериалов и воздействия наночастиц (НЧ) имеет огромное значение в рамках оценки риска, создаваемого производством и применением таких материалов. Частицы нанометрового диапазона составляют существенную фракцию в аэрозольном загрязнении атмосферного воздуха и воздуха рабочих помещений ряда отраслей промышленности [1, 2]. При высокотемпературных металлургических и сварочных технологиях в воздух рабочих помещений выделяются аэрозоли конденсации металлов и главным образом их оксидов, в дисперсном составе которых преобладают субмикронные НЧ. Значительная их часть может быть отнесена к НЧ наряду с частицами, измеряемыми сотнями нанометров. Подобная ситуация характерна, в частности для плавки и разлива меди [3]. Изучение токсичности металлосодержащих НЧ и их гигиенического нормирования является необходимым для углубления теоретических основ оценки риска для здоровья [4–6].

НЧ являются фактором риска возникновения и прогрессирования многих нейродегенеративных заболеваний. При попадании в организм различными путями НЧ распространяются посредством системного кровообращения и проникают в различные ткани и органы, включая мозг, за счет разрушения мембран нейрональных клеток и прохождения через ГЭБ [7, 8].

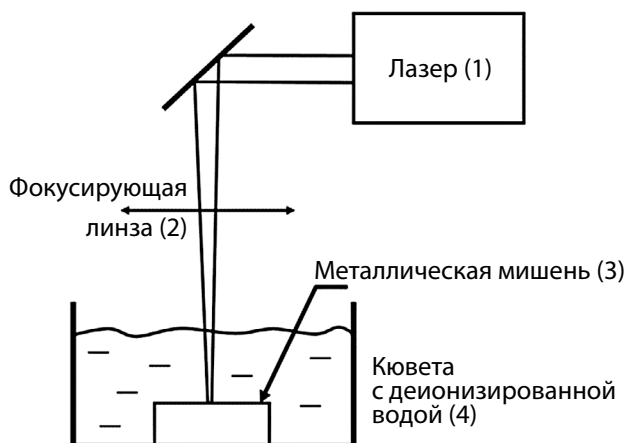


Рис. 1. Схема метода получения водной суспензии Me-NЧ.

Fig. 1. Diagram of the method for obtaining a suspension of Me-NPs: 1 – laser; 2 – focusing lens; 3 – metal target; 4 – cuvette with deionized water.

Медь является кофактором ферментов и играет важную роль в метаболизме мозга, однако в настоящее время очень мало известно о точных механизмах взаимодействия меди с клеточными процессами, регулирующими обучение и память [9, 10]. Источниками поступления меди в ионной форме и форме НЧ в окружающую среду являются горнорудная, металлообрабатывающая, деревообрабатывающая (консервирование древесины), текстильная промышленности, производство красителей. При плавке и разливе меди и медных сплавов нанометровые частицы CuO загрязняют воздух рабочей зоны и воздействуют на рабочих [11]. Высокий уровень меди может быть токсичным из-за образования свободных радикалов [12, 13]. Нарушение регуляции медью рецепторов NMDA может способствовать развитию других неврологических расстройств, например, при болезнях Менкеса и Альцгеймера [14, 15].

Ранее было показано, что NMDA-рецепторы в гиппокампе играют решающую роль в развитии пространственного обучения, памяти, синаптической пластичности [16], а также в нейротоксичности [17]. Нарушение формирования NMDA-рецепторов ассоциируется со снижением регенерации нейронов, нарушением пространственного обучения и приводит к возникновению психоэмоциональных расстройств [18–21].

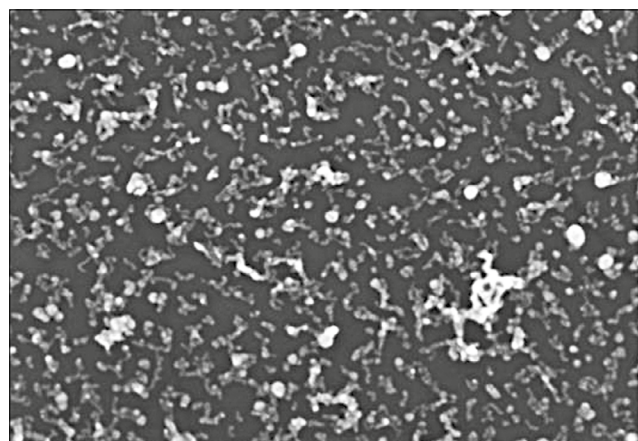
Цель работы – исследование изменений уровня экспрессии генов рецептора NMDA (*GluN1*, *GluN2a* и *GluN2b*) под воздействием наночастиц оксида меди.

Материал и методы

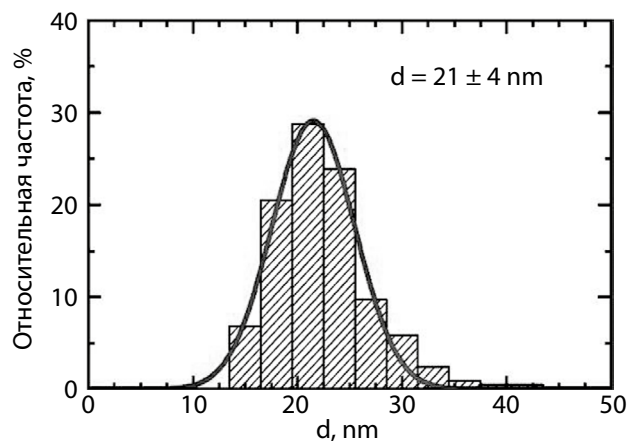
Суспензия исследуемых наночастиц оксида меди была получена в Центре коллективного пользования «Современные нанотехнологии» Уральского федерального университета с помощью лазерной абляции из тонких листовых мишеней соответствующего материала 99,99% чистоты в стерильной деионизированной воде (рис. 1).

Форма и размер частиц были охарактеризованы с использованием сканирующей электронной микроскопии и функции распределения частиц по диаметру. Средний диаметр использованных наночастиц оксида меди составил – 21 ± 4 нм (рис. 2).

Стабильность суспензий характеризовалась величиной дзета-потенциала, измеренного с помощью анализатора Zetasizer Nano



а



б

Рис. 2. Наночастицы CuO в суспензии, приготовленной для экспериментов на животных:

а – сканирующая электронная микроскопия с увеличением $\times 100\,000$; б – функция распределения частиц по диаметру.

Fig. 2. CuO nanoparticles in a suspension prepared for experiments:

а – scanning electron microscopy with magnification $\times 100\,000$; б – and the particle diameter distribution function.

ZS (Malvern, UK), и была высокой (дзета-потенциал вплоть до 42 mV), что позволило повысить концентрацию суспензии путём частичного испарения воды при 50 °С. Этим способом удалось достичь концентрации 0,25 мг/л без изменения размера и химической идентичности Me-НЧ.

Субхронический эксперимент был проведён на аутбредных белых крысах-самцах массой от 200 до 270 г, в возрасте 3–4 мес. В течение 6 нед 3 раза в неделю внутривентриально животным вводили суспензию НЧ. Контрольным животным вводили стерильную деионизированную воду в аналогичном объёме. Внутривентриальная модель введения была выбрана для большей точности индивидуальной дозировки.

1-я группа («Контроль») являлась контрольной и состояла из 5 животных; 2-я группа («CuO_{0,25}»), состоящая из 4 животных, подвергалась воздействию НЧ меди в разовой дозе 1 мг/ кг массы тела (была использована суспензия НЧ CuO концентрацией 0,25 мг/мл); 3-я («CuO_{0,5}»), состоящая из 5 животных, — воздействию НЧ меди в разовой дозе 2 мг/ кг массы тела (была использована суспензия НЧ CuO концентрацией 0,5 мг/мл). Выбор доз был проведён на основании результатов предыдущих экспериментов с использованием наночастиц оксида меди [3].

Выполнялась фиксация части гиппокампа крыс в фиксаторе IntactRNA для стабилизации РНК в биологических образцах с после-

дующим выделением суммарной РНК фенол-хлороформным методом. Количественный анализ РНК проводился с использованием флуориметра Qubit 4 и набора реактивов Qubit™ RNA BR Assay Kit 100 assays.

Образцы РНК обрабатывались раствором ДНКазы I, не содержащей РНКаз. Далее проводилась реакция обратной транскрипции с набором реактивов MMLV-RH (Диаэм) при помощи амплификатора Thermal Cycler SimpliAmp™.

Определение экспрессии генов *GRIN1*, *GRIN2a* и *GRIN2b*, кодирующих белки GluN1, GluN2a и GluN2b, соответственно проводилось методом ПЦР в реальном времени с праймерами, зондами [21], готовой смесью для ПЦР qPCRmix-HS, Евроген, на амплификаторе для ПЦР в режиме реального времени Quant Studio 3.

Уровень экспрессии генов определяли по содержанию мРНК исследуемого гена относительно количества мРНК референсного гена домашнего хозяйства GAPDH. Для этого использовали значение показателя порогового цикла дельта Ct (ΔCt). Показатель порогового цикла рассчитывали при помощи формулы:

$$\Delta Ct_{(ген)} = Ct_{(ген)} - Ct_{(GAPDH)}.$$

Для статистической обработки данных использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса для попарного сравнения нескольких групп в программе Statistica 12.

Результаты и обсуждение

Ионотропные глутаматные рецепторы NMDA отвечают за быструю синаптическую передачу и играют важную роль в регуляции длительности возбуждающего потенциала, тем самым участвуя в осуществлении когнитивных функций. Функциональная активность NMDA-рецепторов напрямую связана с их субъединичным составом [22, 23]. NMDA-рецепторный комплекс представляет собой гетеротетрамер, состоящий из обязательных GluN1 и вариантных GluN2 (a–d) либо GluN3 (a, b) субъединиц, благодаря которым обеспечивается большая функциональная и региональная вариативность NMDA-рецепторов [23]. Отличительной чертой рецепторов NMDA-класса является регуляция проводимости ионных каналов для Ca^{2+} . Благодаря этому субъединицы GluN2 регулируют ряд важных свойств рецептора, включая скорости дезактивации и десенсибилизации, сродство к глицину и глутамату, максимальную вероятность открытия и восприимчивость к блокированию магния [24].

Обнаружена обратная корреляция уровня экспрессии генов *GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*, кодирующих белки субъединиц рецептора NMDA (GluN1, GluN2a и GluN2b) в гиппокампе и концентрации НЧ оксида меди. Так, при воздействии наночастиц оксида меди в концентрации 0,5 мг/мл было выявлено статистически значимое уменьшение уровня экспрессии для каждого гена (*GluN1*, *GluN2a* и *GluN2b*). Однако статистически значимые различия значений показателя порогового цикла для всех исследуемых генов не обнаружены между контрольной группой и группой $CuO_{0,25}$. Также нет статистически значимых различий между группами $CuO_{0,25}$ и $CuO_{0,5}$.

Значения показателя порогового цикла гена *GRIN1* у группы после введения НЧ в концентрации 0,5 мг/мл снизилось в 7,75 раза в сравнении со значением в контрольной группе: $\Delta Ct_{(GRIN1)}$ контроль = 6,301; $\Delta Ct_{(GRIN1)}$ НЧ CuO в концентрации 0,25 мг/мл = 3,677; $\Delta Ct_{(GRIN1)}$ НЧ CuO в концентрации 0,5 мг/мл = 0,813 (рис. 3).

Значение показателя порогового цикла гена *GRIN2A* у группы после введения НЧ в концентрации 0,5 мг/мл снизилось в 2,25 раза в сравнении с контрольной группой: $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ контроль = 7,823; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ НЧ CuO в концентрации

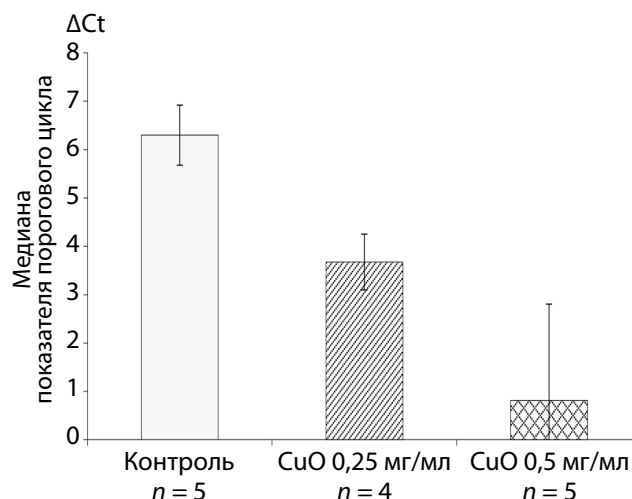


Рис. 3. Значения показателя ΔCt гена *GRIN1*. Данные представлены в виде $Me \pm SE$.

n – количество исследуемых животных в группе.

Fig. 3. Values of the ΔCt index of the *GRIN1* gene. Data is presented as $Me \pm SE$.

n – is the number of studied animals in the group.

0,25 мг/мл = 4,851; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ НЧ CuO в концентрации 0,5 мг/мл = 3,477 (рис. 4).

Значение показателя порогового цикла гена *GRIN2B* у группы после введения НЧ в концентрации 0,5 мг/мл снизилось в 3,46 раза в сравнении с контрольной группой: $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ контроль = 4,747; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ НЧ CuO в концентрации 0,25 мг/мл = 2,571; $\Delta Ct_{(GRIN2A)}$ НЧ CuO в концентрации 0,5 мг/мл = 1,37 (рис. 5).

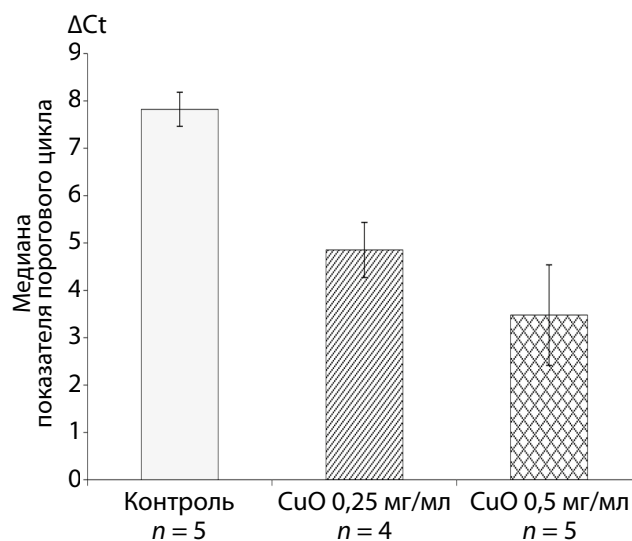


Рис. 4. Значения показателя ΔCt гена *GRIN2A*. Данные представлены в виде $Me \pm SE$.

n – количество исследуемых животных в группе.

Fig. 4. Values of the ΔCt index of the *GRIN2A* gene. Data is presented as $Me \pm SE$.

n – is the number of studied animals in the group.

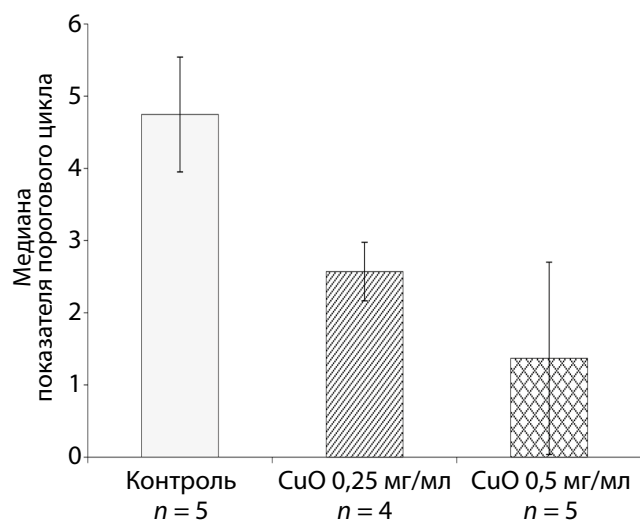


Рис. 5. Значения показателя ΔC_t гена *GRIN2B*. Данные представлены в виде $Me \pm SE$.

n – количество исследуемых животных в группе.

Fig. 5. Values of the ΔC_t index of the *GRIN2B* gene. Data is presented as $Me \pm SE$.

n – is the number of studied animals in the group.

Большое количество исследований показывает, что NMDAR являются ключевыми мишенями для тяжёлых металлов. В ряде исследований было показано, что Pb_2 и TiO_2 являются неконкурентными ингибиторами GluN2A-содержащих NMDAR [25, 26].

Полученные нами данные частично согласуются с проведёнными ранее исследованиями Li с соавторами, где экспрессия *GRIN2A* значительно снижалась у крыс, обработанных наночастицами оксида меди, однако не было обнаружено изменений в экспрессии субъединицы *GRIN2B* [27].

Вероятно, что интенсификация процесса перекисного окисления липидов, вызванная наночастицами оксида меди, изменила буферную способность Ca^{2+} и мембранный потенциал, а затем повлияла на активацию NMDAR в окружающих синаптических окончаниях [28], что способствовало образованию активных форм кислорода. Кроме того, было показано, что воздействие наночастиц CuO индуцировало апоптоз нейронов гиппокампа [29]. Данный факт может объяснить наличие снижения уровня экспрессии генов рецептора NMDA в гиппокампе крыс вследствие окислительного стресса, вызванного наночастицами меди.

Заключение

Таким образом, было выявлено статистически достоверное снижение уровня экспрессии генов ионотропного рецептора глутамата NMDA (*GRIN1*, *GRIN2A*, *GRIN2B*) в гиппокампе мозга крыс при воздействии наночастиц оксида меди в концентрации 0,5 мг/мл. Полученные результаты подтверждают проявление нейротоксического действия, вызванного наночастицами оксида меди, а также могут послужить основой для дальнейших исследований.

Исследование нейротоксичности на моделях экспериментальных животных является важной ступенью, которая даст возможность понять молекулярные механизмы специфического ответа центральной нервной системы на токсическое воздействие.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 3, 6–10, 12–20, 22–29 см в References)

1. Уланова Т.С., Антипова М.В., Забирова М.И., Волкова М.В. Определение частиц нанодиапазона в воздухе рабочей зоны металлургического производства. *Анализ риска здоровью*. 2015; 1: 77–81.
2. Гурвич В.Б., Кацнельсон Б.А., Рузаков В.О., Привалова Л.И., Бушуева Т.В., Гребенкина С.В. Биохимические эффекты у рабочих, подвергающихся влиянию аэрозолей металлургического производства меди, содержащих наночастицы. *Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии: теоретические основы, идентификация опасности для здоровья и пути ее снижения: Материалы международной конференции 20–21 октября 2016 г.* Екатеринбург; 2016: 21–23.
4. Хамидулина Х.Х., Давыдова Ю.О. Международные подходы к оценке токсичности и опасности наночастиц и наноматериалов. *Токсикологический вестник*. 2011; 6: 53–7.
5. Филатов Б.Н., Бочарова Л.И., Клаучек В.В., Масленников А.А., Почепцов А.Я., Точилкина Л.П. Производство и применение наноматериалов (токсиколого-гигиенические проблемы). *Фармакология*. 2015; 16: 259–66.
11. Кацнельсон Б.А., Привалова Л.И., Гурвич В.Б., Макеев О.Г., Шур В.Я., Сутункова М.П. и соавт. Способ профилактики вредных эффектов общетоксического и генотоксического действия наночастиц оксида меди на организм. Патент РФ № 2560682; 2015.
21. Трофимов А.Н., Ротов А.Ю., Вениаминова, Е.А., Фомалонт К., Шварц А.П., Зубарева О.Е. Изменение поведения и экспрессии генов ионотропных рецепторов глутамата в мозге взрослых крыс после неонатальных введений бактериального липополисахарида. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2020; 106(3): 356–72.

REFERENCES

1. Ulanova T.S., Antipova M.V., Zaborova M.I., Volkova M.V. Determination of nanoscale particles in the air of working zone at the metallurgical production. *Analiz riska zdorovyu*. 2015; 1: 77–81. (in Russian)
2. Gurvich V.B., Katznelson B.A., Ruzakov V.O., Privalova L.I., Bushueva T.V., Grebyonkina S.V. Biochemical effects of workers exposed to aerosols of metallurgical copper production containing nanoparticles. In: *Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation October 20–21, 2016 [Aktualnye gigienicheskie aspekty nanotoksikologii: teoreticheskie osnovy, identifikatsiya opasnosti dlya zdorovya i puti ee snizheniya: Materialy mezhdunarodnoy konferentsii 20–21 oktyabrya 2016 goda]*. Ekaterinburg, 2016; 21–3. (in Russian)
3. Minigaliev I.A., Katznelson B.A., Panov V.G., Privalova L.I., Varaksin A.N., Gurvich V.B. et al. In vivo toxicity of copper oxide, lead oxide and zinc oxide nanoparticles acting in different combinations and its attenuation with a complex of innocuous bio-protectors. *Toxicology*. 2017; 380: 72–93.
4. Khamidulina Kh.Kh., Davydova Yu.O. International approaches to the evaluation of the toxicity and hazards of nanoparticles and nanomaterials. *Toksikologicheskii vestnik*. 2011; 6: 53–7. (in Russian)
5. Filatov B.N., Bocharova L.I., Klauček V.V., Maslennikov A.A., Pocheptsov A.Ya., Tochilkina L.P. Production and use of nanomaterials (toxicological and hygienic problems). *Farmakologiya*. 2015; 16(1): 259–66. (in Russian)

6. De Matteis V., Cascione M., Toma C.C., Pellegrino P., Rizzello L., Rinaldi R. Tailoring Cell Morphomechanical Perturbations Through Metal Oxide Nanoparticles. *V. Nano-scale Res. Lett.* 2019; 14(1): 109.
7. Takenaka S., Karg E., Roth C., Schulz H., Ziesenis A., et al. Pulmonary and systemic distribution of inhaled ultrafine silver particles in rats. *Environ Health Perspect.* 2001; 109: 547–51.
8. Sharma H.S., Sharma A. Nanoparticles aggravate heat stress induced cognitive deficits, blood-brain barrier disruption, edema formation and brain pathology. *Prog Brain Res.* 2007; 162: 245–73.
9. Linder M.C., Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996; 63: 797–811.
10. Stys P.K., You H.T., Zamponi G.W. Copper-dependent regulation of NMDA receptors by cellular prion protein: implications for neurodegenerative disorders. *J. Physiol.* 2012; 590: 1357–68.
11. Katsnelson B.A., Privalova L.I., Gurvich V.B., Makeev O.G., Shur V.J., Sutunkova M.P. et al. Method for prevention of adverse health effects of general toxic and genotoxic action of copper oxide nanoparticles. *Patent RF; N 2560682* (in Russian).
12. Valko M., Morris H., Cronin M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr. Med. Chem.* 2005; 12: 1161–208.
13. Pal A., Badyal R.K., Vasishtha R.K., Attri S.V., Thapa B.R., Prasad R. Biochemical, histological, and memory impairment effects of chronic copper toxicity: a model for non-wilsonian brain copper toxicosis in wistar rat. *Biol. Trace Elem. Res.* 2013; 153: 257–68.
14. Hung Y.H., Bush A.I., Cherny R.A. Copper in the brain and Alzheimer's disease. *J. Biol. Inorg. Chem.* 2010; 15: 61–76.
15. Huang Y., Shen W., Su J., Cheng B., Li D., Liu G., Zhou W.X., Zhang Y.X. Modulating the Balance of Synaptic and Extrasynaptic NMDA Receptors Shows Positive Effects against Amyloid-beta-Induced Neurotoxicity. *J. Alzheimers Dis.* 2017; 57: 885–97.
16. MacDonald J.F., Jackson M.F., Beazely M.A. Hippocampal long-term synaptic plasticity and signal amplification of NMDA receptors. *Crit Rev Neurobiol.* 2006; 18: 71–84.
17. Schlieff M.L., West T., Craig A.M., Holtzman D.M., Gitlin J.D. Role of the Menkes copper-transporting ATPase in NMDA receptor-mediated neuronal toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 14919–24.
18. Kalia L.V., Kalia S.K., Salter M.W. NMDA receptors in clinical neurology: excitatory times ahead. *Lancet Neurol.* 2008; 7: 742–55.
19. Kotermanski S.E., Johnson J.W. Mg²⁺ imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine. *J. Neurosci.* 2009; 29: 2774–9.
20. Wang R., Reddy P.H. Role of Glutamate and NMDA Receptors in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* 2017; 57: 1041–8.
21. Trofimov A.N., Rotov A.Yu., Veniaminova E.A., Fomalont K., Schwarz A.P., Zubareva O.E. Behavioral alterations of adult rats evoked by neonatal LPS injections are associated with changes of ionotropic glutamate receptors gene expression in the brain. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M. Sechenova.* 2020; 106(3): 356–72. (in Russian)
22. Gielen M., Retchless B.S., Mony L., Johnson J.W., Paoletti P. Mechanism of differential control of NMDA receptor activity by NR2 subunits. *Nature.* 2009; 459(7247): 703–7.
23. Hansen K.B., Yi F., Perszyk R.E., Furukawa H., Wollmuth L.P., Gibb A.J., Traynelis S.F. Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *Journal of General Physiology.* 2018; 150(8): 1081–105.
24. Paoletti P., Bellone C., Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2013; 14: 383–400.
25. Omelchenko I.A., Nelson C.S., Allen C.N. Lead inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors containing NR2A, NR2C and NR2D subunits. *J. Pharmacol Exp Ther.* 1997; 282(3): 1458–64.
26. Hong F., Sheng L., Ze Y., Hong J., Zhou Y., Wang L. et al. Suppression of neurite outgrowth of primary cultured hippocampal neurons is involved in impairment of glutamate metabolism and NMDA receptor function caused by nanoparticulate TiO₂. *Biomaterials.* 2015; 53: 76–85.
27. Li X., Sun W., An L. Nano-CuO impairs spatial cognition associated with inhibiting hippocampal long-term potentiation via affecting glutamatergic neurotransmission in rats. *Toxicology and Industrial Health.* 2018; 34(6): 409–21.
28. Stark D.T., Bazan N.G. Synaptic and extrasynaptic NMDA receptors differentially modulate neuronal cyclooxygenase-2 function, lipid peroxidation, and neuroprotection. *Journal of Neuroscience.* 2011; 31(39): 13710–21.
29. An L., Liu S., Yang Z. et al. Cognitive impairment in rats induced by nano-CuO and its possible mechanisms. *Toxicology Letters.* 2012; 213(2): 220–7.

ОБ АВТОРАХ:

Ситников Иван Андреевич (Sitnikov Ivan Andreevich), младший научный сотрудник отдела молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, sitnikovia@utrc.ru

Шаихова Дарья Рамильевна (Shaikhova Daria Ramilevna), младший научный сотрудник отдела молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, darya.boo@mail.ru

Амромина Анна Михайловна (Amromina Anna Mikhailovna), младший научный сотрудник отдела молекулярной биологии и электронной микроскопии ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, amrominaat@utrc.ru

Сутункова Марина Петровна (Sutunkova Marina Petrovna), доктор медицинских наук, директор ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, sutunkova@utrc.ru

Рябова Юлия Владимировна (Ryabova Yuliya Vladimirovna), младший научный сотрудник отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, ryabova@utrc.ru

Тажигулова Анастасия Валерьевна (Tazhigulova Anastasiya Valerevna), лаборант-исследователь отдела токсикологии и биопрофилактики ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, vasilyevaav@utrc.ru

Рузаков Вадим Олегович (Ruzakov Vadim Olegovich), помощник директора по развитию ФБУН «Екатеринбургский медицинский научный центр профилактики и охраны здоровья рабочих промпредприятий» Роспотребнадзора, 620014, г. Екатеринбург, ruzakov@utrc.ru

