

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201991521** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2019.12.30

(22) Дата подачи заявки
2017.12.19

(51) Int. Cl. *A61K 41/00* (2006.01)
A61N 2/00 (2006.01)
A61N 1/36 (2006.01)
A61N 1/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МОЗГА ИЛИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССА

(31) 16306752.3

(32) 2016.12.21

(33) EP

(86) PCT/EP2017/083608

(87) WO 2018/114988 2018.06.28

(71) Заявитель:
НАНОБИОТИКС (FR)

(72) Изобретатель:
**Леви Лоран, Мер Мари-Эдит, Поттье
Аньес (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Данное изобретение относится к области медицины, в частности к улучшению деятельности мозга и к лечению патологического стресса. Более конкретно, данное изобретение относится к наночастице или агрегату наночастицы для применения с целью улучшения деятельности мозга или профилактики или лечения патологического стресса у субъекта, когда наночастица и/или агрегат наночастиц подвергается воздействию электрического поля, где материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или выше 200, и изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или ниже 100. Оно также относится к композициям и наборам, содержащим такие наночастицы и/или агрегаты наночастиц, а также к их применению.

A1

201991521

201991521

A1

**НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ МОЗГА ИЛИ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТРЕССА**

Настоящее изобретение относится к области медицины, в частности, к улучшению деятельности мозга и к лечению патологического стресса. Более конкретно, данное изобретение относится к наночастице или агрегату наночастицы для применения с целью улучшения деятельности мозга или профилактики или лечения патологического стресса у субъекта, когда наночастица или агрегат наночастиц подвергается воздействию электрического поля/стимула, где материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или выше 200, и изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или ниже 100. Оно также относится к композициям и наборам, содержащим такие наночастицы и/или агрегаты наночастиц, а также к их применению.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

С развитием понимания нейробиологии, мозг можно представить как электрическую сеть, кодирующую и передающую информацию по своим электрическим проводам – нейронам. Связь между нейронами проста и сложна одновременно: проста, потому что она основана на притоке/оттоке ионов внутри нейронов, которые приводят к потенциалам действия (или «всплескам» электрической активности); сложна, потому что сеть мозга состоит из сотен миллиардов нейронов, которые образуют узлы, центры и модули, которые демонстрируют скоординированные взаимодействия в различных пространственных и временных масштабах (*Fornito et al., Nature Reviews Neuroscience, 2015, 16, 159-172: The connectomics of brain disorders*). Нейронная связь зависит от анатомических компонентов, которые соединяют отдельные нейроны (структуры), и от процесса передачи информации (функции). Оба аспекта влияют на общую деятельность нервной системы. Нейронные взаимодействия передаются колебаниями паттерна электрической активности мозга,

где колебания обычно измеряются с помощью электроэнцефалограммы (ЭЭГ). Наблюдаются разные полосы частот колебаний: дельта, тэта, альфа, бета, гамма (Ward et al., *Trends in Cognitive Sciences*, 2003, 7(12), 553-559: *Synchronous neural oscillations and cognitive processes*). В структурном отношении наиболее яркой нейроанатомической особенностью мозга является обильная связь между нейронами, что отражает важность нейронной коммуникации. Представляется, что синхронизация колебаний ("синхронность") между одной областью мозга и другой составляет последний уровень информационного кодирования [первый уровень (нейрон): потенциалы действий; второй уровень (нейронная сеть(и)): нейронные колебания] приводя к пространственно-временную координацию (Engel et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2001, 2, 704-716: *Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing*). Важно отметить, что появляются доказательства того, что тонко сбалансированная схема синхронизации и десинхронизации в пространстве и времени является фундаментальной для функциональной деятельности нервной системы (Schnitzler et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6, 285-296: *Normal and pathological oscillatory communication in the brain*).

Развитие определенных навыков, креативности или генерации идей у определенных людей, а не у других, является чем-то очень загадочным, и до сих пор не объяснено. Однако изучение некоторых заболеваний и их симптомов может помочь понять функционирование «нормального» и «аномального» мозга. Например, было отмечено, что люди с нейродегенеративным заболеванием, таким как лобно-височная деменция, развивают навыки рисования и живописи с развитием своего заболевания (Miller et al., *Neurology*, 1998, 978-982: *Emergence of artistic talent in frontotemporal dementia*). Несколько публикаций демонстрируют, что предрасположенность к неврологическому заболеванию, такому как биполярное расстройство, шизофрения или аутизм, выше у людей (и их родственников первой степени), работающих в креативной области (инженерия, литература, живопись), чем у "не креативных людей" (Andreasen N.C., *American Journal of Psychiatry*, 1987,

144(10), 1288-1292: *Creativity and mental illness: prevalence rates in writers and their first-degree relatives*; Baron-Cohen et al., *Autism*, 1997, 101-109: *Is there a link between engineering and autism*; Sussman et al., *Stanford Journal of Neuroscience*, 2007, 1(1), 21-24: *Mental illness and creativity: a neurological view of the "tortured artist"*). Были разработаны несколько моделей для описания процесса создания и генерации идей: полушарная модель, которая предполагает, что не доминирующее полушарие специализируется на креативной деятельности, или, в последнее время, лобно-височная модель, которая предполагает, что изменения в височной доле могут усилить процесс генерации идей, тогда как изменения в лобной доле могут ослабить его (Flaherty et al., *J Comp Neurol*, 2005, 493(1), 147-153: *Frontotemporal and dopaminergic control of idea generation and creative drive*). Действительно, некоторые ученые могут выполнять сложные численные расчеты, в то же время испытывая недостаток знаний в элементарной арифметике (Snyder et al., *Proceedings of the Royal Society of London B*, 1999, 266, 587-592: *Is integer arithmetic fundamental to mental processing?: the mind's secret arithmetic*). Интересно, что есть свидетельства того, что такая необычная способность связана с торможением левого (доминантного) полушария вместе с содействием правому (недоминантному) полушарию (Treffert D.A., *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2009, 364, 1351-1357: *The savant syndrome: an extraordinary condition. A synopsis: past, present, future*).

Таким образом, мозг представляет собой динамическую систему, в которой специфические состояния функционирования мозга происходят из комплексных возбуждающих и тормозящих взаимодействий между популяциями нейронов. В таком случае, "аномальное" состояние отражает дисбаланс между комплексными возбуждающими и тормозящими взаимодействиями между нейронными популяциями (Kapur et al., *Brain*, 1996, 119, 1775-1790: *Paradoxical functional facilitation in brain-behaviour research, a critical review*).

В настоящее время модуляция электрической активности нейронов (нейромодуляция) может быть вызвана с помощью электростимуляции. Существующие методики получения электрического стимула в мозге используют либо прямую электростимуляцию, либо индукцию электрического поля через применение электрического тока через магнитную катушку.

Транскраниальную микрополяризацию (ТКМП) уже применяли для тестирования воздействия электростимуляции на деятельность мозга и физические навыки. Коротко, ТКМП состоит в применении непрерывного слабого тока на поверхности черепа, через губчатые электроды на двух различных областях мозга, где один стимулируется анодом, другой стимулируется катодом. Несколько опытов показали, что при применении электродов на поверхности черепа и тока менее 2 мА в течение менее 30 мин, у людей, занятых различными задачами, такими как математическое обучение, кратковременная память, изучение языка или приобретение двигательных навыков, улучшение эффективности этой задачи наблюдалось по сравнению с фиктивной стимуляцией (*Filmer et al., Trends in Neurosciences, 2014, 37(12), 742-753: Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function*). Команда из Исследовательской лаборатории ВВС Министерства обороны США недавно продемонстрировала, что применение анодной ТКМП для военных операторов при 2 мА в течение 30 минут в левой дорзолатеральной префронтальной коре (связанной с постоянным вниманием, кратковременной памятью, принятием решений, планированием и рассуждением) значительно улучшает способность участников к многозадачности (*Nelson et al., Front. Hum. Neurosci., 2016, 10:589: The effects of transcranial direct current stimulation on multitasking throughput capacity*).

Также было показано, что транскраниальная микрополяризация вызывает полезные нейронные эффекты, которые дают улучшение моторного поведения, а именно, реабилитации физических способностей в случае удара (*Madhavan et al., Frontiers in Psychiatry, 2012, 3(66), 1-9: Enhancing motor skill learning with transcranial direct current stimulation - a concise review*

with applications to stroke). У здоровых людей электростимуляция рассматривается как средство для улучшения, увеличения или повышения физических характеристик/возможностей (*Banissy et al., Frontiers in Human Neuroscience, 2013, 7(129), 1-3: Transcranial direct current stimulation in sports training: potential approaches*).

Электрическое стимулирование мозга является интересным способом улучшения деятельности/возможностей мозга.

Недавно были предложены неинвазивные методы нейронной стимуляции, такие как использование света или ультразвука для прямой стимуляции нейронов.

Интересно, что были исследованы наноматериалы с уникальными свойствами в качестве посредника для преобразования беспроводного первичного стимула в локализованный вторичный стимул, в основном, электрическое поле или тепло, на границе раздела наноматериал-нейрон (*Wang Y. & Guo L. Nanomaterial-enabled neural stimulation. Frontiers in Neuroscience. 2016; vol. 10, Article 69*). Таким образом, была продемонстрирована оптоэлектрическая трансдукция с использованием квантовых точек, оптотермическая трансдукция с использованием золотых наноматериалов, магнитоэлектрическая трансдукция с использованием магнитоэлектрических наночастиц, магнитотермическая трансдукция с использованием суперпарамагнитных наночастиц и акустоэлектрическая трансдукция с использованием пьезоэлектрических наноматериалов.

Например, магнитоэлектрические (МЭ) наночастицы являются композитными наночастицами, обладающими пьезоэлектрическими и магнитострикционными свойствами. Конкретно, МЭ-эффект, создаваемый, например, наночастицами $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$, возникает при объединенном действии двух различных материалов, т.е. магнитострикционного (CoFe_2O_4) материала и пьезоэлектрического (BaTiO_3) материала. Более точно, если наночастицы $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ подвергаются воздействию магнитного поля, то: во-первых, магнитострикционный материал изменяет свою длину (объем), тем самым вызывая локальный стресс, во-вторых, пьезоэлектрический материал создает электрическую поляризацию (заряд) в результате

реакции на этот локальный стресс. Ни магнитострикционный материал, ни пьезоэлектрический материал не способны сами создавать МЭ-эффект или электрическую поляризацию под воздействием магнитного поля, что объясняется у *Grössinger R. et al. (Grössinger R. et al., Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2008, 320, 1972-1977: The physics of magnetoelectric composites)*.

Данное изобретение относится к наночастицам и/или агрегатам наночастиц (агрегатам наночастиц) для применения в/для увеличения, повышения или улучшения деятельности/способностей мозга для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, где наночастица или агрегат наночастиц подвергается воздействию электрического поля/стимула. Электрическое поле обычно применяют с помощью транскраниальной электростимуляции (ТЭС) или транскраниальной магнитной стимуляции (ТМС).

Наночастицы или агрегаты наночастиц улучшают возбуждающее и/или ингибирующее действие применяемого электрического поля на нейронную сеть (-и) в одной и/или другой области мозга, сужая пространственное разрешение (очаговость) и повышая глубину проникновения электрического поля, при применении стандартных методик электростимуляции.

Более того, наночастицы или агрегаты наночастиц в соответствии с данным изобретением позволяют снизить применяемый ток, напряжение, ширину и/или частоту импульсов, тем самым снижая известную потенциальную токсичность, связанную с прилагаемым/индуцируемым электрическим током.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

В данном документе, с обеспечением выгодного эффекта, впервые описана наночастица или агрегат наночастиц для применения в/для увеличения, повышения или улучшения деятельности/способностей мозга или для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома у субъекта, где наночастица или агрегат наночастиц

подвергают воздействию электрического поля/стимула. Материал наночастиц или агрегатов наночастиц обычно выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

Также описано применение наночастицы или агрегата наночастиц для получения композиции для увеличения, повышения или улучшения деятельности/способностей мозга или для профилактики или лечения патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта, нуждающегося в таковом.

Также здесь описана композиция для применения в/для улучшения деятельности мозга или для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении аутологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта, подвергающегося воздействию электрического поля/стимула, где композиция содержит или состоит из наночастиц и/или агрегатов наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки, и где материал наночастиц или агрегатов наночастиц обычно выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

Далее описан набор, содержащий, по крайней мере, две отдельных наночастицы и/или агрегата наночастиц, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельных материалов, обычно выбранных из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100, и его применение обычно для улучшения деятельности мозга или в способе улучшения деятельности мозга, или в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома у пациента.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

По оценкам, нервная система человека состоит из примерно 80-120 миллиардов нервных клеток (*Herculano-Houzel S. Frontier in Human Neuroscience (2009), 3(31): 1-11: The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain*). Определяющей характеристикой нейрона (или нервной клетки) является способность передавать электрические сигналы в форме потенциалов действия.

Нейрон/нервная клетка составляет элементарный узел мозга. Структура нейрона/нервной клетки состоит из: "сомы" или "тела клетки", которая содержит ядро и может быть пролонгирована дендритами, "нейрита", который передает электрический сигнал, и окончания нейрита, которое состоит из синаптических окончаний.

Нервные клетки могут взаимодействовать друг с другом в высоко структурированной манере, образующей нейронные сети. Нейрон взаимодействует через синаптические связи. Внутри нейрона наноцепи составляют основной биохимический механизм для медиирования ключевых нейронных свойств, таких как обучение и память, и генез нейронной ритмичности.

Микроцепь может быть образована всего лишь несколькими нейронами и может выполнять сложные задачи, такие как медиировать рефлексы, обрабатывать сенсорную информацию, инициировать движение и медиировать обучение и память. Макроцепь является более сложной сетью, которая состоит из множества встроенных микроцепей. Макроцепи медируют высшие функции мозга, такие как распознавание объекта и познание. Итак, несколько уровней сетей занимают нервную систему.

Возбудимость нейронной сети

Нейроны посылают сообщения электрохимически (т.е. химические вещества/ионы вызывают электрический сигнал). Важными ионами в нервной системе являются натрий и калий, кальций и хлорид. Когда нейрон не посылает сигнал, он находится "в состоянии покоя". Если нейрон находится в состоянии покоя, внутренняя часть нейрона является отрицательной относительно внешней части. Хотя концентрации различных ионов пытаются балансировать на обеих сторонах мембраны, они не могут, потому

что клеточная мембрана пропускает только некоторые ионы через каналы (ионные каналы). В дополнение к этим селективным ионным каналам, существует помпа, которая использует энергию для перемещения трех ионов натрия из нейрона на каждые два иона калия, которые она вводит. Наконец, когда все эти силы сбалансированы, и разница в напряжении между внутренней и внешней частью нейрона измерена, мембранный потенциал покоя (также «потенциал покоя») нейрона составляет около -70 мВ. Это означает, что внутренняя часть нейрона на 70 мВ меньше, чем внешняя часть. В состоянии покоя, снаружи нейрона находится относительно больше ионов натрия, а внутри этого нейрона больше ионов калия. Потенциал действия (также идентифицированный как "всплеск" или "импульс") возникает, когда нейрон посылает информацию вниз к нейриту, от тела клетки. Это означает, что некоторое событие (стимул) заставляет потенциал покоя двигаться в направлении 0 мВ. Когда деполяризация достигает около -55 мВ, нейрон запускает потенциал действия. Если деполяризация не достигает этого критического порогового уровня, потенциал действия не запускается (механизм включения/выключения). Также, если пороговый уровень достигается, всегда возникает потенциал действия фиксированной амплитуды. Поэтому либо деполяризация не достигает порога, либо создается полный потенциал действия.

Большая изменчивость обнаружена в скорости распространения потенциалов действия. Фактически, скорость распространения потенциалов действия в нервах может варьироваться от 100 метров в секунду до менее десяти метров в секунду. В то время как константа времени является показателем того, как быстро мембрана будет реагировать на раздражитель во времени, константа пространства (также константа длины) является показателем того, насколько хорошо электрический потенциал будет распространяться вдоль нейрита в зависимости от расстояния.

Межнейрональная связь внутри и между нейронными сетями

Существует три типа сетей межнейрональных связей, которые используются для изучения связи внутри и в пределах головного мозга. Структурные межнейрональные связи основаны на определении

трактографии, которая физически соединяет области головного мозга. Это анатомические сетевые карты, которые указывают возможные пути, по которым могут передвигаться сигналы в головном мозге. Функциональные межнейрональные связи идентифицируют активность в областях головного мозга, которая имеет схожую частоту, фазу и/или амплитуду коррелированной активности. Эффективные межнейрональные связи применяют информацию функциональных межнейрональных связей и это еще один шаг вперед в определении прямого или косвенного влияния, которое одна нейронная система может оказывать на другую, в частности, направление динамического потока информации в мозге (Bowyer et al., *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2016, 2(1), 1-12: *Coherence a measure of the brain networks: past and present.*).

Синхронизированная активность в нейронной сети может быть определена магнитоэнцефалограммой (МЭГ), электроэнцефалограммой (ЭЭГ), функциональной магнитно-резонансной томографией (фМРТ) или позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ), затем изображением с анализом сети межнейрональных связей. МЭГ (магнитоэнцефалограмма) или ЭЭГ (электроэнцефалограмма) предпочтительны, так как они имеют высокое временное разрешение для разрешения динамического потока информации. Анализ межнейрональных связей мозга проводят, чтобы наметить коммуникационные сети, необходимые для работы мозга. Отдельные области мозга специализируются на обработке определенных видов информации. Методы визуализации показали, что эти области связаны и взаимодействуют с другими специализированными областями в пределах сетей в мозге. "Когеренция" (Bowyer et al.) является математическим методом, который количественно определяет частоту и амплитуду синхронности (состояние нахождения в синхронности или синхронизированное состояние) нейрональных структур колебаний функционирования мозга. Определение синхронной активации нейронов может быть использовано для определения благополучия или целостности функциональных межнейрональных связей в мозге человека. Наложение карт функциональных межнейрональных связей на

изображения структурных межнейронных связей и использование направления потока информации, полученного из эффективных межнейронных связей, обеспечивает всеобъемлющее понимание того, как функционирует мозг.

Неповрежденный мозг экспрессирует сложные схемы синхронной активности, ассоциированные с различными 'статусами' организма, от медленного дельта ритма (0,5-4 Гц), через тэта (4-8 Гц), альфа (8-12 Гц), бета (15-30 Гц) и гамма (30-70 Гц) колебания. Интересно, что диссоциированная культура корковых структур предлагает удобную систему для изучения правил, которые определяют возникновение, генерацию и распространение сетевых разрядов (всплесков) и вспышек (скоплений всплесков) в популяциях плотно связанных нейронов. Сетевая активность может быть записана для длительных периодов времени не инвазивным методом и с конечным временным разрешением, используя многоэлектродные матрицы. 2-мерная диссоциированная культура может применяться в качестве жизнеспособной системы тестирования для изучения правил, которые управляют образованием и сохранением сетевой активности в мозге, позволяя тестировать гипотезу, которая не может быть решена в неповрежденном мозге (Cohen E. et al., *Brain Research*, 2008, 1235, 21-30: *Determinants of spontaneous activity in networks of cultured hippocampus*).

Умственные способности человека или его деятельность мозга, такие как интеллект, особенно сложны. Понимание этих способностей в механистическом плане может способствовать их совершенствованию. Исследования с использованием энцефалограмм и событийно-обусловленных потенциалов показывают, что скорость и надежность нейронной передачи связаны с более высокими показателями, как правило, с более высоким интеллектом. Ранние исследования нейровизуализации с использованием ПЭТ показали, что интеллект отрицательно коррелирует с метаболизмом церебральной глюкозы во время умственной деятельности, что приводит к формулировке гипотезы «нейронной эффективности». Согласно этой гипотезе, более умные люди тратят меньше нейронных

ресурсов для выполнения данного уровня. Интеллект в смысле рассуждений и новых способностей к решению проблем постоянно связан с целостностью, структурой и функцией латеральной префронтальной коры и, возможно, с функцией других областей. Нерешенные вопросы о нейронных основах интеллекта включают, помимо прочего, взаимосвязь между психометрическим интеллектом (т.е. интеллектом, измеренным в тесте IQ-типа, обычно оценивающим точность реакции (а не скорость)) и (i) функциональной межнейрональной связью между компонентами рабочих сетей памяти, как показано в исследованиях на основе электроэнцефалограмм, и (ii) нейронной пластичностью (то есть термином, используемым для обозначения тех процессов, которые связаны с серьезными изменениями нервной системы в ответ на опыт, и которые перестают действовать в зрелом возрасте у человека). Сообщалось, что развитие нейронных связей согласуется с развитием интеллекта (*Gray J.R. et al., Nature Review Neuroscience, 2004, 5, 471-482: Neurobiology of intelligence: science and ethics; Garlick D., Psychological Review, 2002, 109(1), 116-136: Understanding the nature of general factor of intelligence: the role of individual difference in neural plasticity as an explanatory mechanism.*).

Коммуникация между нейронами действительно важна для высших функций мозга, таких как восприятие, память и движение (*Massobrio P et al. Neural Plasticity, 2015, Article ID 196195, In vitro studies of neuronal networks and synaptic plasticity in invertebrates and in mammals using multi electrode arrays*). Хотя предполагается, что формирование и развитие связей имеют решающее значение в процессе обучения, их сохранение, по-видимому, необходимо для памяти. Синаптическая пластичность долгое время была вовлечена в когнитивные процессы, такие как обучение и память. Синаптическая пластичность на сетевом уровне обеспечивает распределенный механизм для преобразования и хранения временной информации в пространственно-распределенных схемах синаптических модификаций. Каждый раз, когда что-то узнают, сеть развивает новую межнейрональную связь и включает новые изученные факты. Известно, что электростимуляция может

эффективно вызывать изменения в синхронизации сети и, в частности, влиять на свойства разрыва сети, увеличивая скорость и разряда и разрыва. Более того, после такого рода спонтанной связанной с активностью стимуляции самые сильные соединения реагируют дальнейшим увеличением своей силы по сравнению с другими соединениями в сети. Этот механизм, вероятно, сохраняет соединения, которые более информативны и имеют отношение к общей сетевой активности. Chiappalone et al. (*European Journal of Neuroscience*, 2008, 28, 221-237: *Network plasticity in cultured cortical assemblies*) обнаружил, что применение found that применение высокочастотной тетанической стимуляции с или без низкой частоты 0,2 Гц в фазе или изочастотной коактивации 1 Гц способно вызвать синаптическое потенцирование глобальной сети. Отклик сети явно увеличивается благодаря синаптическому потенцированию, что можно понять, посмотрев на увеличение количества эффективных соединений сети (Poli D. et al. *Frontiers in Neural Circuits.*, 2015, 9, article 57: *Functional connectivity in in vitro neuronal assemblies*). Le Feber et al. (*PLoS ONE*, 2010, 5(1), e88871: *The effect of slow electrical stimuli to achieve learning in cultured networks of rat cortical neurons*) применил к кортикальным структурам в зрелом состоянии развития импульсы двухфазного тока с частотой 0,2-0,33 Гц для исследования возможных модификаций функциональных межнейронных связей сети и, следовательно, синаптической пластичности. Они обнаружили, что электростимуляция влияет на количество функциональных связей (соединений), а также на среднюю магнитуду изменений.

Эффективные соединения между нейронами могут быть определены, например, мультиэлектродными матрицами на диссоциированных нейронных культурах, как представлено у Chiappalone et al. (*European Journal of Neuroscience*, 2008, 28, 221-237: *Network plasticity in cultured cortical assemblies*) или методами получения изображений, хорошо известными специалисту в данной области техники, такими как методы визуализации на основе электронов, которые дают структурную информацию о синаптических межнейронных связях, обычно, электронная микроскопия (ЭМ),

например, серийная блочная электронная микроскопия (СБЭМ), сканирующая электронная микроскопия с серийным срезом (СЭМСС), ЭМ с автоматической передачей (ЭМАП) и т.д.; методы визуализации на основе фотона, например, "брэйнбоу" (Lichtman JW et al., *Curr Opin Neurobiol*, 2008, 22, 144-153: *Ome sweet ome: what can the genome tell us about the connectome?*; Cai D., et al., *Nat Methods*, 2013, 10(6), 540-547: *Improved tools for the Brainbow toolbox*), "матричная томография" (MT) (Micheva KD., et al., 2007, *Neuron*, 55, 25-36: *Array tomography: a new tool for imaging the molecular architecture and ultrastructure of neural circuits*; Micheva KD., et al., 2010, *Neuron*, 68, 639-653: *Single-synapse analysis of a diverse synapse population: proteomic imaging methods and markers*), воспроизведение GFP через синаптических партнеров ("GRASP"), в частности, GRASP млекопитающих "mGRASP" (Kim J, et al., 2012, *Nat Methods*, 9(1), 96-102: *mGRASP enables mapping mammalian synaptic connectivity with light microscopy*; Feng L, et al., 2012, *Bioinformatics*, 28, i25-i31: *Improved synapse detection for mGRASP-assisted brain connectivity.*), транссинаптическое отслеживание вирусом бешенства (Osakada F, et al., 2011, *Neuron*, 71, 617-631: *New rabies virus variants for monitoring and manipulating activity and gene expression in defined neural circuits*; Wickersham IR, et al., 2007, *Nat Methods*, 4(1), 47-49: *Retrograde neuronal tracing with a deletion-mutant rabies virus*; Wickersham IR, et al., 2007, *Neuron*, 53(5), 639-647: *Monosynaptic restriction of transsynaptic tracing from single, genetically targeted neurons*), флуоресцентная селективная плоскостная микроскопия освещения (fSPIM) (Tomer R, et al., 2012 *Nat methods*, 9, 755-763: *Quantitative high-speed imaging of entire developing embryos with simultaneous Multiview light-sheet microscopy*; York AG, et al., 2012, *Nat Methods*, 9(7), 749-754: *Resolution doubling in live, multicellular organisms via multifocal structured illumination microscopy.*), предпочтительно в сочетании со способом очистки, таким как "CLARITY" (Chung K, et al., 2013, *Nature*, 497 (7449), 332-337: *Structural and molecular*

interrogation of intact biological systems.); а также ортогенетические методы, такие как методы получения изображений канал-родопсина и/или двухфотонного микроскопического кальция, которые позволяют отображать пространственное распределение синаптических связей вместе с показателями синаптической силы (Petreanu L, et al., 2007, *Nat Neurosci*, 10, 663-668: *Channelrhodopsin-2-assisted circuit mapping of long-range callosal projections*; Wang H, et al., 2007, *Proc Natl Acad Sci USA*, 104, 8143-8148: *High-speed mapping of synaptic connectivity using photostimulation in channelrhodopsin-2 transgenic mice*) а также определение активных синапсов, возбужденных различными вводами (Little JP, et al., 2012, *J Neurosci: Off J Soc Neurosci*, 32(37), 12808-12819: *Subcellular synaptic connectivity of layer 2 pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex*; MacAskill AF, et al., 2012, *Nat Neurosci*, 15(12), 1624-1626: *Subcellular connectivity underlies pathway-specific signaling in the nucleus accumbens*); или любые сочетания этих разных методов (Yook C. et al., *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013, 70, 4747-4757: *Mapping mammalian synaptic connectivity*).

Изменения сетевой активности вызывают изменения плотности подъединиц рецептора глутамата 2-амино-3-(5-метил-3-оксо-1,2-оксазол-4-ил)пропановой кислоты (АМПК), которые присутствуют на шипах, найденных в возбуждающих синапсах. Такие пертурбации могут влиять на вероятность потенциала действия и результирующую скорость частоту пульсации в сети нейронов. Эти типы синаптических модуляций наблюдались в связи с изучением и памятью и, как полагают, лежат в основе нейронного субстрата памяти, известного как долговременная потенция (ДП). Niedringhaus M. et al. (*PLoS ONE*, 2013, 8(3), e57144: *Synaptic Potentiation Facilitates Memory-like Attractor: Dynamics in Cultured In Vitro Hippocampal Networks*) описывает временную сетевую активность, которая возникает при введении фармакологических агентов форсколина (50 мМ) и ролипрама (100 нМ) в культивированные нейроны гиппокампа для того, чтобы вызвать химическую долговременную потенцию (ДП). Авторы наблюдали значительное увеличение активности всплесков и

разрывов после химической ДП. Более того, после химической ДП, всплески, по-видимому, группируются в плотно организованные эпизоды укороченной продолжительности и более высокой частоты. Происходит равномерное снижение коэффициента вариаций межвсплесковых интервалов на всех электродах, прошедших химическую обработку ДП. Таким образом, их результаты показали, что молекулярные модуляции в синапсе, стимулируемые повышенным потенцированием, приводят к перестройке всплесков, поскольку они образуют плотно уплотненные эпизоды постоянной активности. Всплески важны во время развития, поскольку они способствуют нормальному функционированию в развитии нейронов, что, в свою очередь, помогает создавать жизнеспособные связи. Эти объединенные результаты демонстрируют, что синаптическая потенция ответственна за реструктуризацию профиля всплеска. Эти реструктурированные всплески облегчают хранение информации в сети.

Структура коры головного мозга

Существует два больших класса кортикальных нейронов: «тормозные нейроны» или «интернейроны», которые создают только ближние локальные связи; и «возбуждающие нейроны» или «проекционные нейроны» или «пирамидальные нейроны», которые распространяют нейриты на отдаленные внутрикорковые, подкорковые и субцеребральные мишени. «Ингибирующие нейроны» или «интернейроны» составляют меньшинство (20%) корковых нейронов; большинство составляют «пирамидальные нейроны» (*Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex*). Проекционные нейроны являются глутаматергическими нейронами, которые передают информацию между различными областями неокортекса и в другие области мозга (*Bikson et al., J Physiol, 2004, 557(1), 175-190: Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices in vitro*). Проекционные нейроны или пирамидальные нейроны названы по их выдающемуся апикальному дендриту, который обычно направлен на поверхность, обеспечивая им пирамидальную морфологию. Обычно нейрон «принадлежит» слою, в котором находится его клеточное тело (или «сома»), даже если

апикальный и базальный дендриты между ними охватывают еще несколько слоев, улавливая более широкий диапазон сигналов (*Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex*).

Серое вещество коры головного мозга представляет собой извилистый, слоистый слой ткани, толщиной 2-3 миллиметра у человека, но с площадью поверхности в несколько сотен квадратных сантиметров (*Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex*). В коре головного мозга распознают шесть основных слоев:

- слой I, молекулярный слой, содержащий мало рассеянных нейронов и состоящий, в основном, из расширений апикальных дендритных пучков пирамидальных нейронов и горизонтально ориентированных нейритов, а также глиальных клеток;

- слой II, внешний гранулярный слой, содержащий преимущественно мелкие и средние пирамидальные нейроны и многочисленные звездчатые нейроны;

- слой III, внешний пирамидальный слой, содержащий преимущественно мелкие и средние пирамидальные нейроны, а также не пирамидальные нейроны с вертикально ориентированными внутрикортикальными нейритами;

- слой IV, внутренний зернистый слой, содержащий различные типы звездчатых и пирамидальных нейронов;

- Слой V, внутренний пирамидальный слой, содержащий крупные пирамидальные нейроны, которые являются источником нейритов, покидающих кору и стекающих к подкорковым структурам (таким как базальные ганглии). В первичной моторной коре лобной доли, слой V содержит клетки, нейриты которых проходят через внутреннюю капсулу, ствол головного мозга и спинной мозг, образуя кортикоспинальный тракт, который является основным путем для произвольного моторного контроля; и

- слой VI, полиморфный или мультиформный слой, содержащий мало крупных пирамидальных нейронов и много мелких веретенообразных пирамидальных и мультиформных нейронов; слой VI посылает эфферентные волокна к таламусу, устанавливая очень точное взаимное соединение между корой и таламусом.

Эти слои по-разному развиваются в различных областях коры головного мозга, например, пирамидальные слои более развиты в двигательных центрах, а гранулярные в сенсорных центрах коры головного мозга.

Модуляция возбудимости коры при электростимуляции

Транскраниальная микрополяризация (ТКМП) является методом электростимуляции коры головного мозга, включающим электроды (один анод и один катод), размещенные на поверхности черепа. Как таковая, ТКМП вызывает модулирование возбудимости коры и пластичные изменения в нейронной сети(ях).

Ток, применяемый в ТКМП, модулирует спонтанную нейронную активность в зависимости от полярности. Поверхностная анодная стимуляция обычно вызывает поток входящего тока в коре, который ожидается благодаря соматической деполяризации пирамидальных кортикальных нейронов и апикальной дендритной гиперполяризации, а поверхностная катодная стимуляция обычно вызывает поток выходящего тока в коре и, как ожидается, приводит к соматической гиперполяризации пирамидальных кортикальных нейронов и апикальной дендритной деполяризации (Kadosh RC, *"The stimulated brain"*, 2014, edited by Elsevier) (см. фигуру 1).

Нейронная поляризуемость также может зависеть от направления применяемого электрического поля относительно оси нейрона (Bikson et al., *J Physiol*, 2004, 557, 1, 175-190: *Effects of uniform extracellular DC electric fields on excitability in rat hippocampal slices in vitro*). Существуют различные конфигурации электродов, дающие различные типы стимуляции и тока (см. фигуру 2). Область мозга, стимулированная анодом, составляет область, где нейронная активность возбуждена/усилена, а область мозга, стимулированная катодом, составляет область, где нейронная активность тормозится (Kadosh RC, *"The stimulated brain"*, 2014, edited by Elsevier) (см. фигуру 3).

В данном документе преимущественно впервые описаны наночастица или агрегат наночастиц для применения в/для усиления, увеличения или улучшения деятельности/способностей

мозга для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, где наночастица или агрегат наночастиц подвергается электрическому полю/стимулу. Материал наночастиц или агрегатов наночастиц обычно выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или выше 200, и изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или ниже 100.

В типовом аспекте, описанная наночастица или агрегат наночастиц предназначен для применения в/для улучшения физических свойств или в/для улучшения когнитивных свойств, т.е. обучения, памяти, чувственного восприятия, внимания и/или принятия решений у субъекта.

Например, большинство исследований за последнее столетие показали, что ни один из участников не может решить проблему с девятью точками, которая состоит в соединении девяти точек четырьмя прямыми линиями, нарисованными без отрыва ручки от бумаги или повторного выполнения линии. Chi et al. показали, что применение ТКМП (прямой ток 1,6 мА с определенной конфигурацией электродов) в течение 10 мин позволяет более 40% участников (из 22 участников) решить проблему (Chi et al., *Neuroscience Letters*, 2012, 515, 121-124: *Brain stimulation enables the solution of an inherently difficult problem*). Другой эксперимент с другим типом проблемы, «арифметикой спичек» (участников попросили исправить ложное арифметическое утверждение, представленное римскими цифрами, построенными из спичек, путем перемещения одной спички из одной позиции в другую без добавления или удаления спички) продемонстрировал то же облегчение решения проблем благодаря электростимуляции ТКМП (Chi et al., *PLOS One*, 2011, 6(2), e16655: *Facilitate insight by non-invasive brain stimulation*).

Улучшение двигательной функции, которое затем приводит к улучшению физических способностей, является одной из увлекательных областей применения улучшения функциональности

мозга. Стимулируя определенные области двигательной области коры головного мозга, у людей было продемонстрировано улучшение мелкой моторики, а также модулирование общих двигательных свойств, таких как утомляемость и чувствительность. Vines et al. и Cuypers et al. показали улучшенные моторные навыки и моторное обучение, используя ТКМП и задачу касания пальцем. В исследовании Vines, участники должны сопоставить номера на экране с клавишами на клавиатуре, где каждая клавиша назначена определенному пальцу. Участники, получившие двухполушарную стимуляцию, были быстрее и точнее при выполнении задачи, давали больше ответов и большую долю правильных ответов по сравнению с участниками, получавшими однополушарную или симулированную стимуляцию (Vines et al., *BMC Neuroscience*, 2008, 9, 103, 1-7: *Dual-hemisphere tDCS facilitates greater improvements for healthy subjects' non-dominant hand compared to uni-hemisphere stimulation*). Cuypers et al. применяли подобный протокол для тестирования того, как повышенная стимуляция (1,5 мА к 1 мА) влияет на усвоение двигательных навыков. Здесь исследователи повторили открытия Vines et al. показывая, что повышенная стимуляция дает дальнейшее улучшение скорости и точности при выполнении задачи (Cuypers et al., *PLOS One*, 2013, 8(6), e67344: *Is motor learning mediated by tDCS intensity?*).

Таким образом, электрическая стимуляция описывается в данном документе как средство для улучшения, увеличения или расширения физических характеристик/способностей, в частности, при спортивных тренировках (Banissy et al., *Frontiers in Human Neuroscience*, 2013, 7(129), 1-3: *Transcranial direct current stimulation in sports training: potential approaches*).

ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИЯ

В контексте изобретения, электрическое поле предпочтительно применяют через транскраниальную электростимуляцию или транскраниальную магнитную стимуляцию.

Если необходимо достигнуть коры головного мозга, электростимуляция выполняется на поверхности (глубина проникновения электрического поля обычно равна или ниже 2 см под

поверхностью кожи; при применении определенной методики, определенные катушки транскраниальной магнитной стимуляции, электрическое поле может достигнуть глубины 5 см). Методики, обеспечивающие такое электрическое поле, включают обычно транскраниальную магнитную стимуляцию (ТМС), периодическую транскраниальную магнитную стимуляцию (пТМС), транскраниальную микрополяризацию (ТКМП), транскраниальную микрополяризацию с высоким разрешением (ВР-ТКМП), транскраниальную электростимуляцию (ТЭС), транскраниальную стимуляцию переменным током (ТСПТ), транскраниальную стимуляцию импульсным током (ТСИТ) и транскраниальную стимуляцию беспорядочными шумами (ТСБШ; переменный ток вместе с беспорядочной амплитудой и частотой). Наиболее широко применяемыми в клинических исследованиях и предпочтительными в контексте изобретения являются ТМС и ТКМП.

Транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС)

Транскраниальная магнитная стимуляция (ТМС) является неинвазивной методикой, которую применяют или исследуют во множестве исследовательских и терапевтических областей применения, включая изучение нормальных и патологических функций мозга и лечение нервных расстройств, и которую применяют в контексте изобретения. В ТМС применяют краткие интенсивные импульсы электрического тока, подаваемые на катушку, помещенную на голову субъекта для создания электрического поля в мозге через электромагнитную индукцию. Индуцированное электрическое поле модулирует нейронные трансмембранные потенциалы и, тем самым, нейронную активность. Месторасположение активации в мозге находится приблизительно в области, где индуцированное электрическое поле является максимальным; это месторасположение, в свою очередь, зависит от геометрии и размещения стимулирующей катушки. Интерес представляют две пространственные особенности электрического поля: глубина проникновения и очаговость, которые зависят от геометрии катушки и легко определяются специалистом.

Транскраниальная микрополяризация (ТКМП)

Транскраниальная микрополяризация (ТКМП) является неинвазивной методикой, применяемой в контексте изобретения, где

стимуляцию мозга проводят благодаря прямому току, приводящему к изменению корковой возбудимости. В ТКМП применяют низкоинтенсивный (0,5–2 мА) постоянный ток, который применяют непосредственно к голове через два электрода (анод/катод) обычно 20–35 см². Один электрод (ссылочный электрод) может быть помещен на лоб (выше надбровной дуги) и другой (активный электрод) может быть помещен на противоположное полушарие, обычно над двигательную область коры головного мозга (M1) или дорзолатеральную префронтальную кору, в зависимости от дизайна. Длительность стимуляции наиболее часто варьируется от 20 до 40 минут. Часть тока проникает в мозг, образуя пиковое электрическое поле приблизительно 0,3 В/м на 1 мА применяемый. Устойчивое электрическое поле, создаваемое во время ТКМП, модифицирует трансмембранный нейронный потенциал и может влиять на уровень возбудимости и чувствительности к синаптическому входу, и модулирует частоту пульсации отдельных нейронов. Повышенная возбудимость возникает при анодной стимуляции, а пониженная возбудимость обычно возникает при катодной стимуляции.

НАНОЧАСТИЦЫ

Описана наночастица или агрегат наночастиц для применения в соответствии с данным изобретением в/для улучшении деятельности мозга или для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта, если указанная наночастица или агрегат наночастиц подвергается воздействию электрического поля, где материал наночастиц или агрегатов наночастиц обычно выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или выше 200, и изоляционного материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} , равной или ниже 100.

Композиция наночастиц

Наночастица, получаемая из проводящего материала

Наночастица, полученная из проводящего материала является

органической наночастицей или неорганической наночастицей.

Неорганическую наночастицу, полученную из проводящего материала, обычно получают с металлическим элементом, имеющим значение стандартного восстановительного потенциала E° равное или выше около 0,01, обычно измеренное при 25°C и давлении 1 атм. относительно стандартного водородного электрода (см. таблицу 2 *"реакции восстановления, имеющие значения E° более положительное, чем значение стандартного водородного электрода"*, 8-25, *Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88th Edition*), более предпочтительно, равное или выше около 0,1, 0,2, 0,4 или 0,5. Обычные металлические элементы, применяемые для получения наночастиц, могут быть выбраны из Tl, Po, Ag, Pd, Ir, Pt, Au и их смеси. Предпочтительно, металлический элемент, применяемый в качестве проводящего материала для получения наночастиц, выбирают из Ir, Pd, Pt, Au и их смеси.

Органические наночастицы, полученные из проводящего материала, обычно получают с органическим материалом, имеющим соседние sp^2 гибридизированные углеродные центры в структуре (т.е. углеродную двойную связь или ароматические циклы, содержащие гетероатомы, обычно N или S, в ароматическом цикле или вне ароматического цикла). Предпочтительные органические материалы выбирают из полианилина, полипиррола, полиацетилена, политиофена, поликарбазола, полипирена, поли(3,4-этилендиокситиофен) и/или поли(3,4-этилендиокситиофен) полистиролсульфоната.

Наночастицы, полученные из полупроводящего материала

Наночастица, полученная из полупроводящего материала, обычно является неорганической наночастицей.

Неорганические наночастицы обычно получают с полупроводящим материалом, представляющим сравнительно небольшую энергию запрещенной зоны (E_g) между валентной зоной и зоной проводимости. Обычно полупроводящий материал имеет запрещенную зону E_g ниже 3,0 эВ, обычно измеренную при комнатной температуре (25°C). В конкретном аспекте, материал является внутренним полупроводящим материалом или внешним полупроводящим материалом,

как дополнительно описано ниже.

Внутренние полупроводящие материалы обычно состоят из элемента группы IVA периодической таблицы Менделеева, такого как кремний (Si) или германий (Ge), в смешанной композиции элементов из групп III и V периодической таблицы Менделеева, таких как AlSb, AlN, GaP, GaN, InP, InN, и т.д., или в смешанной композиции элементов из групп II и VI периодической таблицы Менделеева, таких как ZnSe, ZnTe, CdTe, и т.д.

Внешние полупроводящие материалы обычно содержат или состоят из внутреннего полупроводника, полученного с высокой степенью химической чистоты, где внутренний полупроводящий материал содержит легирующую добавку. В конкретном аспекте, если внешний полупроводящий материал наночастицы или агрегата наночастиц состоит из элемента из группы IVA периодической таблицы Менделеева, его легируют носителем заряда, выбранным из Al, B, Ga, In и P. Такие внешние полупроводящие материалы могут быть либо о-типа, в котором доминируют носители отрицательного заряда или п-типа, в котором доминируют носители положительного заряда. Типовой внешний полупроводящий материал п-типа состоит из кремния (Si) или германия (Ge), легированного заряженным носителем, выбранным из алюминия (Al), бора (B), галлия (Ga) и индия (In); типовой внешний полупроводящий материал п-типа состоит из кремния (Si) или германия (Ge), обычно легированного фосфором (P).

Наночастицы, полученные из изолирующего материала, имеющего высокую относительную диэлектрическую константу (относительную диэлектрическую проницаемость), т.е. равную или выше 200

Наночастицы, полученные из, или состоящие из, изолирующего материала, имеющего запрещенную зону E_g равную или выше 3,0 эВ, обычно измеренную при комнатной температуре (25°C) и высокой относительной диэлектрической константе ϵ_{ijk} (также называемой относительная диэлектрическая проницаемость), обычно получают с материалом, имеющим относительную диэлектрическую константу ϵ_{ijk} равную или выше 200, которую обычно измеряют при температуре от 20°C до 30°C и от 10^2 Гц вплоть до инфракрасной частоты (см.,

например, таблицу 12-45 "Диэлектрическая проницаемость (диэлектрическая константа) неорганического твердого вещества"; *Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88th Edition; Compilation of the static dielectric constant of inorganic solid. K.F. Young and H.P.R. Frederikse. J. Phys. Chem. Ref. Data, Vol. 2, No. 2, 1973).*

Такие наночастицы обычно получают с диэлектрическим материалом, который является смешанным оксидом металла, предпочтительно выбранным из BaTiO_3 , KTaNbO_3 , KTaO_3 , SrTiO_3 , BaSrTiO_3 , и т.д.

Наночастицы, полученные из изолирующего материала, имеющего низкую относительную диэлектрическую константу (относительную диэлектрическую проницаемость), т.е. равную или ниже 100

Наночастицы, полученные из, или состоящие из, изолирующего материала, имеющего низкую диэлектрическую константу, обычно получают из материала, имеющего запрещенную зону E_g равную или выше 3,0 эВ, обычно измеренную при комнатной температуре (25°C) и относительной диэлектрической константе ϵ_{ijk} , равной или ниже 100, которую обычно измеряют при температуре от 20°C до 30°C и от 10^2 Гц вплоть до инфракрасной частоты (см., например, таблицу 12-45 "Диэлектрическая проницаемость (диэлектрическая константа) неорганического твердого вещества"; *Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88th Edition; Compilation of the static dielectric constant of inorganic solid. K.F. Young and H.P.R. Frederikse. J. Phys. Chem. Ref. Data, Vol. 2, No. 2, 1973).*

Такие наночастицы обычно получают с диэлектрическим материалом, который выбирают из оксида металла, смешанного оксида металла, металлический элемент которого относится к периоду 3, 5 или 6 периодической таблицы Менделеева или лантаноиду, и углеродного материала. Диэлектрический материал предпочтительно выбирают из Al_2O_3 , LaAlO_3 , La_2O_3 , CeO_2 , SiO_2 , SnO_2 , Ta_2O_5 , ZrO_2 , HfO_2 , Y_2O_3 и алмазного углерода.

Форма наночастицы или агрегата наночастиц

Так как форма частицы или агрегата может влиять на ее "биосовместимость", предпочтительна частица или агрегат, имеющая

довольно однородную форму. По фармакокинетическим причинам, предпочтительны наночастицы или агрегаты, которые являются по существу сферическими, круглыми или яйцеобразными по форме. Такая форма также благоприятствует взаимодействию наночастицы или агрегата с клеткой или поглощению клетками. Особенно предпочтительна сферическая или круглая форма.

Форму наночастицы или агрегата наночастиц обычно оценивают с применением просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Величина или размер наночастицы или агрегата наночастиц

В духе изобретения, термины «наночастица» или «агрегат наночастиц» относятся к продукту, в частности, к синтетическому продукту с размером в нанометровом диапазоне, обычно от 1 нм до 500 нм.

Термин «агрегат наночастиц» или «наночастичный агрегат» относится к совокупности наночастиц, сильно, обычно ковалентно связанных друг с другом.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) может применяться для измерения размера наночастицы или агрегата наночастиц. Также динамическое светорассеяние (ДСР) может применяться для измерения гидродинамического диаметра наночастиц или агрегата наночастиц в растворе. Эти два метода также могут применяться друг за другом для сравнения измерений размера и подтверждения указанного размера. Предпочтительным методом является ДСР (Ref. *International Standard ISO22412 Particle Size Analysis- Dynamic Light Scattering, International Organisation for Standardisation (ISO) 2008*), тогда как средний гидродинамический диаметр наночастицы или агрегата наночастиц в растворе дан по интенсивности.

Как правило, самая большая величина или размер является диаметром наночастицы круглой или сферической формы или самой большой длиной наночастицы яйцевидной или овальной формы.

Наибольшая величина наночастицы или агрегата, определенного здесь, обычно составляет от около 2 нм до около 250 нм, предпочтительно, от около 4 или 10 нм до около 100 нм или около 200 нм, даже более предпочтительно, от около 10 нм до около 150 нм.

Биосовместимое покрытие наночастиц или агрегатов наночастиц

В предпочтительном варианте, наночастица или агрегат наночастиц, применяемый в контексте данного изобретения для получения заявляемой композиции, может быть покрыт биосовместимым материалом, выбранным из агента, обладающего свойством малозаметности. Агентом, обладающим свойством малозаметности, может быть агент, представляющий пространственную группу. Такая группа может быть выбрана, например, из полиакрилата; полиакриламида (поли(N-изопропилакриламида)); поликарбамида; биополимера; полисахарида, такого как декстран или ксилан; и коллагена. В другом предпочтительном варианте, наночастицы или агрегаты наночастиц могут быть покрыты биосовместимым материалом, выбранным из агента, позволяющего взаимодействие с биологической целью. Такой агент обычно может придавать положительный или отрицательный заряд поверхности наночастицы или агрегата наночастиц. Агентом, формирующим положительный заряд поверхности наночастицы или агрегаты наночастиц, может быть аминопропилтриэтоксисилан или полилизин. Агентом, формирующим отрицательный заряд поверхности наночастицы или агрегаты наночастиц, может быть, например, фосфат (например, полифосфат, метафосфат, пирофосфат и т.д.), карбоксилат (например, цитрат или дикарбоновая кислота, в частности, янтарная кислота) или сульфат.

В предпочтительном варианте, наночастица или агрегат наночастиц, используемые в контексте настоящего изобретения, представляют гидрофильный нейтральный поверхностный заряд или покрыты биосовместимым материалом (т. е. покрывающим агентом), выбранным из гидрофильного агента, придающего наночастице нейтральный поверхностный заряд. Действительно, когда наночастицы в соответствии с данным изобретением вводят субъекту, наночастицы, представляющие гидрофильный нейтральный поверхностный заряд, или наночастицы, покрытые биосовместимым агентом, выбранным из гидрофильного агента, придающего нейтральный поверхностный заряд наночастицам, особенно подходят для оптимизации применения описанных здесь наночастиц при воздействии электрического стимула/поля.

Гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастицам или агрегатам наночастиц, может быть агент, демонстрирующий функциональную группу, выбранную из спирта ($R-OH$), альдегида ($R-CON$), кетона ($R-CO-R$), сложного эфира ($R-COOR$), кислоты ($R-COOH$), тиола ($R-SH$), сахара (глюкозы, фруктозы, рибозы, например), ангидрида ($RCOOOC-R$) и пиррола. Гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастицам или агрегатам наночастиц, может быть мономер, димер, олигомер, полимер или сополимер. Если агентом является олигомер, он может быть олигосахаридом, таким как циклодекстрин. Если агентом является полимер, он может быть сложным полиэфиром (таким как поли(молочная кислота) или полигидроксипропановая кислота), простым полиэфиром, полиэтиленоксидом, полиэтиленгликолем, поливиниловым спиртом, поликапролактоном, поливинилпирролидоном, полисахаридом, таким как целлюлоза, полипирролом и т.д.

Кроме того, гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастицам или агрегатам наночастиц, может быть агент, демонстрирующий определенные группы ($R-$), способные взаимодействовать с поверхностью наночастицы или агрегата наночастиц. R обычно выбирают из тиола, силана, карбоновой и фосфатной группы.

Когда наночастица или агрегат наночастиц является проводником или полупроводником и металлической наночастицей, R предпочтительно является тиолом, тиоэфиром, дитиолом или карбоксильной группой. Предпочтительно, гидрофильный нейтральный агент выбирают из тиоглюкозы, 2-меркаптоэтанола, 1-тиоглицерина, тиогликоля и гидроксимасляной кислоты.

Когда наночастица или агрегат наночастиц является изолятором и наночастицей из оксида или смешанного оксида, R предпочтительно является силаном или фосфатной группой. Предпочтительно, гидрофильным нейтральным покрывающим агентом является гидроксиметилтриэтоксисилан, соединение фруктозы 6-фосфата или глюкозы 6-фосфата.

Гидрофильным агентом, придающим нейтральный поверхностный заряд наночастице или агрегату наночастиц, может быть

цвиттерийное соединение, такое как аминокислота, пептид, полипептид, витамин или фосфолипид.

Поверхностный заряд наночастицы или агрегата наночастиц обычно определяют, как хорошо известно специалисту в данной области техники, измерениями зета потенциала, обычно в воде для наночастиц с концентрацией от 0,2 до 10 г/л, для pH от 6 до 8, и обычно добавлением электролитов в концентрациях в воде от 0,001 до 0,2 М, например, 0,01 М или 0,15 М. В указанных выше определенных условиях, поверхностный заряд наночастицы или агрегата наночастиц обычно составляет от -10 мВ до +10 мВ (соответствует нейтральному поверхностному заряду), от -20 мВ до +20 мВ или от -35 мВ до +35 мВ.

Полное биосовместимое покрытие наночастицы или агрегата может быть предпочтительным в контексте данного изобретения, для того, чтобы избежать любого электрического заряда на поверхности наночастиц, когда наночастицы представляют гидрофильный нейтральный поверхностный заряд. "Полное покрытие" подразумевает присутствие очень высокой плотности/компактности биосовместимых молекул, способных создавать, по крайней мере, полный монослой на поверхности частицы.

Биосовместимое покрытие обеспечивает, в частности, стабильность наночастиц в жидкости, такой как физиологическая жидкость (кровь, плазма, сыворотка и т. д.) или любой изотонической среде или физиологической среде, необходимой для фармацевтического введения.

Стабильность может быть подтверждена количественным определением сухого экстракта с использованием сушильной печи и измерением на суспензии наночастиц до и после фильтрации, обычно на фильтре 0,45 мкм.

Преимущественно, покрытие сохраняет целостность частицы *in vivo*, обеспечивает или улучшает ее биосовместимость и облегчает ее необязательную функционализацию (например, со спейсерными молекулами, биосовместимыми полимерами, целевыми агентами, белками и т. д.).

Биосовместимая наночастица или агрегат наночастиц в

соответствии с данным изобретением не должны ни растворять и высвобождать токсичные вещества после введения *in vivo* (то есть, при физиологическом pH), ни показывать окислительно-восстановительное поведение в отсутствие электростимуляции.

Другой описанный здесь конкретный объект относится к композиции, в частности, фармацевтической композиции, содержащей наночастицы и/или агрегаты наночастиц, такие, как определены выше, предпочтительно вместе с фармацевтически приемлемым носителем или наполнителем.

В частности, здесь описана композиция для применения в/для улучшения деятельности мозга или для профилактики или лечения/для применения в профилактике или лечении аутологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта, подвергающегося воздействию электрического поля/стимула, где композиция содержит или состоит из наночастиц и/или агрегатов наночастиц и фармацевтически приемлемой подложки, и где материал наночастиц или агрегатов наночастиц обычно выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

В предпочтительном аспекте, композиция содержит, или состоит из, по крайней мере, двух различных наночастиц и/или агрегатов наночастиц, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из отдельного материала, обычно выбранного из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

Композиция может быть в форме твердого вещества, жидкости (частицы в суспензии), аэрозоля, геля, пасты и подобных. Предпочтительные композиции находятся в жидкой или гелевой форме. Особенно предпочтительная композиция находится в жидкой форме.

Применяемой фармацевтически приемлемой подложкой или

носителем может быть любая классическая подложка для специалиста в данной области техники, например, физиологический раствор, изотонический, стерильный, буферный раствор, раствор не водного носителя и подобные.

Композиция также может содержать стабилизаторы, подсластители, поверхностно-активные вещества, полимеры и подобные.

Она может быть составлена, например, в виде ампулы, аэрозоля, бутылки, таблетки, капсулы, с применением методик получения фармацевтического состава, известным специалисту в данной области техники.

Наночастицы или агрегат наночастиц в соответствии с данным изобретением может вводиться субъекту с применением различных возможных путей, таких как внутривенный (BV), через дыхательные пути (ингаляцией), интратекальный, интраокулярный или пероральный путь (через рот), предпочтительно, с применением внутривенного или интратекального.

Если необходимо, могут проводиться повторные инъекции или введения наночастиц или агрегатов.

Описанные здесь наночастицы, агрегаты наночастиц и композиции, содержащие такие наночастицы или агрегаты наночастиц, предназначены для применения у субъекта, обычно для применения у животного, предпочтительно у млекопитающего, еще более предпочтительно у человека независимо от его возраста или пола.

Типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые в кору головного мозга, гиппокамп или миндалину, составляет от 10^5 до 10^{15} , предпочтительно, от 10^7 до 10^{14} , более предпочтительно, от 10^9 до 10^{12} . Также типовые количества наночастиц или агрегатов наночастиц, вводимые в кору головного мозга, гиппокамп или миндалину субъекта, составляют от 10^2 до 10^{12} наночастиц или агрегатов наночастиц на см^3 .

В контексте изобретения, воздействие на наночастицы или агрегаты наночастиц электрического поля/стимула эквивалентно воздействию на субъекта, которому вводят наночастицы или

агрегаты наночастиц, электрического поля/стимула.

Также описан способ улучшения деятельности мозга у субъекта и способ лечения патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома у субъекта, где каждый способ включает стадию введения любых из описанных здесь наночастиц или агрегатов наночастиц субъекту и стадию воздействия на такого субъекта электрического поля/стимула.

Другой описанный здесь объект относится к набору, содержащему, по крайней мере, две разных наночастицы и/или агрегата наночастиц, описанных здесь, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из разного материала, обычно выбранного из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100, как описано здесь.

В конкретном варианте, набор содержит, в отдельных контейнерах, отдельные наночастицы и/или агрегаты наночастиц, описанные здесь (которые предназначены для контакта, обычно смешивания, либо *in situ*, т.е. на целевом месте, либо *in vitro* или *ex vivo* до помещения смеси на целевое место).

Также здесь описано применение, *in vivo*, *in vitro* или *ex vivo*, такого набора в способе, описанном здесь, улучшения деятельности/способностей мозга у субъекта, обычно для улучшения эффективных связей в нейронной сети и, таким образом, возможности памяти нейронной сети у субъекта, или в способе профилактики или лечения патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта, нуждающегося в таковом. Также описан набор, описанный здесь, для применения в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома, у субъекта.

Настоящее изобретение направлено, в частности, на повышение деятельности мозга благодаря использованию наночастиц или агрегатов наночастиц, подвергающихся воздействию электрического стимула/поля.

Наночастицы или агрегаты наночастиц в соответствии с данным

изобретением, когда они подвергаются воздействию электрического стимула/поля, предназначены для использования в/для повышения деятельности/способностей мозга, или для профилактики или лечения/для использования в профилактике или лечении патологического стресса или, по крайней мере, одного его симптома у субъекта, нуждающегося в таком лечении, за счет локального увеличения ингибирующего эффекта, вызванного катодной стимуляцией через применение одного типа наночастиц "NP1" (т.е. изолирующих наночастиц) и/или локального увеличения локального увеличения возбуждающего действия, вызванного анодной стимуляцией посредством использования наночастиц другого типа "NP2" (т.е. проводниковых или полупроводниковых наночастиц) [см. фигуру 4-а): местное повышение ингибирующего действия наночастицами "NP1", 4-б) местное повышение возбуждающего действия наночастицами "NP2", 4-с): местное повышение ингибирующего действия наночастицами "NP1" и местное повышение возбуждающего действия наночастицами "NP2"].

В конкретном аспекте, наночастица или агрегат наночастиц, описанные здесь, предназначены для применения в способе в/или улучшения физических свойств и в/для улучшения обучения, запоминания, чувственного восприятия, внимания и/или принятия решений субъектом, нуждающимся в таком лечении.

У грызунов, обычно у мышей, надежные доказательства психометрического интеллекта могут быть получены при тестировании батарей, включающих различные задачи. Эти тесты обычно включают учебные задачи, такие как распознавание запахов или пространственная навигация. Учебный тест связан с сенсорным, двигательным или мотивационным требованием, предъявляемым к животному. Например, для оценки мышления у мышей может применяться тест на основе концепции «быстрого картирования» For instance, to assess reasoning in mice, a TЭCt based on the concept of "быстрого схватывания, запоминания и усвоения" (Carey S, et al., *Proceedings of the Stanford Child Language Conference.*, 1978, 15, 17-29: *Acquiring a single new word*), для оценки задачи на внимание у мышей может применяться "Струп-тест у

мышей", и для оценки эффективности рабочей памяти или объема рабочей памяти у мышей может применяться анализ "радиального восьмирукавного лабиринта" (*Matzel L.D et al. Current Directions in Psychological Science, 2013, 22(5), 342-348: The architecture of intelligence. Converging evidence from studies of humans and animals*).

IQ тест может применяться для оценки для оценки возможностей памяти у человека. IQ тесты, такие как матрица Равена или шкала интеллекта взрослых Векслера, хорошо известны специалисту в данной области техники и обычно применяются для оценки возможностей рабочей памяти у человека. Словесно-цветовой тест Струпа на интерференцию (*Stroop JR, Journal of Experimental Psychology, 1935, 18, 643-652: Studies of interference in serial verbal reactions*) также может применяться у человека для прогнозирования общего интеллекта (*Huang L, et al., Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance, 2012, 38, 414-428: Measuring the interrelations among multiple paradigms of visual attention: an individual differences approach*).

В другом конкретном аспекте, наночастица или агрегат наночастиц, описанные в настоящем документе, предназначены для профилактики или лечения/для использования в профилактике или лечении субъекта путем усиления нервных/нейронных связей, функциональной межнейрональной связи и/или синаптической пластичности в головном мозге субъекта, нуждающегося в таком лечении.

В типовом аспекте, описанные здесь наночастица или агрегат наночастиц предназначены для профилактики или лечения/для использования в профилактике или лечении субъекта, страдающего измененной функциональной активностью мозга.

В другом конкретном аспекте, описанные здесь наночастица или агрегат наночастиц предназначены для профилактики или лечения/для использования в профилактике или лечении субъекта, страдающего патологическим стрессом или, по крайней мере, одним из его симптомов, в частности, от хронического стресса. Все

живые организмы стремятся к динамическому равновесию, которое называется гомеостазом. Этому равновесию угрожают определенные физические и психологические события. Интерфейс между поступающей сенсорной информацией и процессом оценки формируется лимбическими структурами мозга, которые включают гиппокамп, миндалину и префронтальную кору. Различные ситуации могут вызвать стресс, например, новизна, неуверенность, разочарование, конфликт, страх, боль и т. д. Постоянное воздействие неблагоприятной окружающей среды, включая раздражители, такие как шум, загрязнение окружающей среды и межличностные конфликты, также может вызывать стресс.

Патологический стресс, возникающий в результате таких кумулятивных и/или повторяющихся ситуаций, изменяет структуру (морфологию) и/или связи и/или функциональные свойства клеток мозга. Как следствие, патологический стресс оказывает серьезное влияние на здоровье и ограничивает качество жизни человека.

Неконтролируемый стресс может иметь серьезные неблагоприятные последствия и вызывать симптомы, включая ухудшение способности к обучению и памяти. При умеренном уровне стресса, некоторые нейрохимические системы (например, катехоламины, глюкокортикоиды) могут влиять на обучение. По мере увеличения уровня стресса (по продолжительности и/или интенсивности) в гиппокампе наблюдаются некоторые временные и постоянные изменения, включая модификации в синаптической пластичности, клеточные морфологические изменения, подавление нейрогенеза у взрослых и/или деструкцию или атрофию нейронов (эти изменения описаны здесь как симптомы патологического стресса). Эти связанные со стрессом изменения в мозге влияют на процессы обучения и памяти. Действительно, гиппокамп, миндалина и префронтальная кора подвергаются стресс-индуцированному структурному ремоделированию, которое изменяет поведенческие и физиологические реакции. Хронический стресс вызывает атрофию нейронов в гиппокампе и префронтальной коре, а также в областях мозга, вовлеченных в память, селективное внимание и исполнительную функцию, и вызывает гипертрофию нейронов в миндалине, области мозга, вовлеченной в страх и агрессивность.

Способность учиться, запоминать и принимать решения может быть поставлена под угрозу и, как правило, снижается вследствие хронического стресса, и может сопровождаться повышенной агрессивностью.

Обширные наблюдения электрофизиологических исследований *in vitro* и *in vivo* последовательно показывают, что стресс и гормоны стресса ухудшают долгосрочное потенцирование (ДП).

Существует много фармацевтических средств, таких как снотворные лекарства, транквилизаторы и бета-блокаторы, которые противодействуют некоторым проблемам, связанным с патологическим нахождением в состоянии стресса. Аналогичным образом, лекарства, которые уменьшают окислительный стресс или воспаление, блокируют синтез или абсорбцию холестерина и лечат инсулиновую резистентность или хроническую боль, могут помочь справиться с метаболическими и неврологическими последствиями нахождения в «состоянии патологического стресса». Все эти лекарственные средства ценны до некоторой степени, но, к сожалению, у каждого есть свои побочные эффекты и ограничения (Kim J.J. et al. *Nature Reviews Neuroscience*, 2002, 3, 453-462: *The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories*; McEwen B.X. *Physiological Review*, 2007, 87, 873-904: *Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain*). Описанные здесь наночастицы теперь могут преимущественно использоваться для лечения субъекта, страдающего от такого патологического стресса, в частности, от хронического стресса, обычно субъекта, имеющего мозг, в котором были обнаружены связанные со стрессом изменения, как описано здесь выше.

Термин «лечение» относится к терапевтическому лечению или мерам, способным предотвратить, ослабить или вылечить патологический стресс или его симптом, как описано здесь выше, в частности, хронический стресс. Такое лечение предназначено для млекопитающего субъекта, предпочтительно, человека, нуждающегося в таковом. Считается, что таковыми являются субъекты, уже идентифицированные (диагностированные) как страдающие патологическим стрессом, как описано здесь, или субъекты, которые считаются «подверженными риску развития» такого

патологического стресса, для которых лечение является превентивным или профилактическим лечением. Конкретными субъектами, страдающими патологическим стрессом, являются субъекты, которым назначают препарат, выбранный из снотворного, транквилизатора и бета-блокатора.

Следующие примеры и соответствующие им фигуры иллюстрируют изобретение, не ограничивая его объем.

ЧЕРТЕЖИ

Фигура 1. Модулирование корковой возбудимости через ТКМП: а) схема пирамидального коркового нейрона; б) анодная стимуляция; с) катодная стимуляция.

Фигура 2. Разная установка электродов для транскраниальной микрополяризации (ТКМП).

Фигура 3. Ингибирующее и возбуждающее действие электростимуляции (ТКМП).

Фигура 4. а): местное увеличение ингибирующего действия с наночастицами "NP1", б) местное увеличение ингибирующего действия с наночастицами "NP2", с): местное увеличение возбуждающего действия с наночастицами "NP1" и местное увеличение возбуждающего действия с наночастицами "NP2"; где NP2 является проводником или полупроводником и NP1 является изолятором.

Фигура 5. Экспериментальная схема культур нейронов, находящихся под воздействием низкочастотной стимуляции (НЧС) на стадии i) и стадии ii), с или без промежуточной стадии i') высокочастотной стимуляции (ВЧС).

Культуры лобной доли мыши готовят из эмбрионов мышей NMRI на 15/16 день и культивируют на 48-луночных MEA в течение 26 дней (период культивации; нативная фаза). Культуры обрабатывают в течение 2 дней суспензиями наночастиц (группы "Наночастицы") или водой (группа "контроль"). Через 2 дня инкубирования активность записывают в течение 2 часов (запись "Пре-стим"). Запись продолжают в две отдельные стадии (стадии i) и ii)) или три отдельные стадии (стадии i), i') и ii)) в следующем порядке: фаза низкочастотной стимуляции (НЧС-1) в течение 30 минут (стадия i)), необязательно, фаза промежуточной тетатической

стимуляции (высокочастотная, ВЧС) в течение 5 минут (стадия i') и фаза низкочастотной стимуляции (НЧС-2) в течение 90 минут (стадия ii). После нативной фазы, два активных электрода идентифицируют на лунку и выбирают для стимуляции. Один из них стимулируют НЧС на стадиях i) и ii), и оба электрода стимулируют ВЧС на стадии i') при проведении. Запись проводят во время стадии i) (значения получают из 60 секунд сгруппированных данных, полученных из 30 минутного периода) и стадии ii) (значения получают из 60 секунд сгруппированных данных, полученных из 30 минутного периода после 60 минутной НЧС).

Фигура 6. Схема двух упрощенных всплесков, очерчивающих некоторые параметры, которые могут быть получены из записи электрической активности. Показывают параметры, описывающие общую активность (всплеск, вспышка, интервал между вспышками (ИМВ) и период вспышки) и структуру вспышки (длительность вспышки, плато вспышки, амплитуду вспышки, интервал вспышки между всплесками (ИВМВ) и площадь вспышки). Стандартные отклонения (СО) этих параметров являются показателями регулярности общей активности и структуры вспышки, соответственно. Коэффициент вариаций во времени (КВврем) отражает временное регулирование схемы активности каждой единицы. КВврем рассчитывают отношением стандартного отклонения параметра к среднему. Коэффициент вариаций в сети (КВсеть) отражает синхронизацию нейронов в сети. КВсеть рассчитывают соотношением стандартного отклонения параметра к среднему по всей сети. Большие значения КВсеть означают широкий спектр вариаций активности в сети, означая меньшую синхронизацию.

Фигура 7. Функциональные действия группы "Наночастицы" (наночастицы из примера 3) под воздействием высокочастотной стимуляции (ВЧС) по сравнению с группами "Контроль" (без наночастиц/с или без высокочастотной стимуляции) на активность сети лобной доли. Результаты показывают ВЧС-специфическое потенцирование на клеточном уровне в присутствии наночастиц по сравнению с группами "Контроль".

Фигура 8. Функциональные действия группы "Наночастицы"

(наночастицы из примера 1) под воздействием высокочастотной стимуляции (ВЧС) по сравнению с группами "Контроль" (с или без высокочастотной стимуляции) на активность сети лобной доли. Результаты показывают ВЧС-специфическое потенцирование на клеточном уровне в присутствии наночастиц по сравнению с группами "Контроль".

ПРИМЕРЫ

Имитация

Имитация может применяться для оценки действия на нейронную сеть (и) наночастиц под воздействием электрического стимула (электрического поля).

In vitro исследования нейронов

На нейронном уровне, методика фиксации потенциала очень полезна для определения потенциалов действия, так как она позволяет одновременное прямое измерение и контроль мембранного потенциала нейрона.

Эту методику применяют для оценки действия наночастиц на одном нейроне.

In vitro исследования сети нейронов

Мультиэлектродные матрицы (МЭМ) позволяют стимулировать и записывать большое количество нейронов (нейронную сеть). Диссоциированные нейронные культуры на МЭМ являются упрощенной моделью, в которой активность сети может управляться последовательностями электростимуляции через множество электродов матрицы. Эта методика очень полезна для оценки физиологически релевантных вопросов в сети и клеточных уровнях, что дает лучшее понимание функции и дисфункции мозга.

Диссоциированные нейронные культуры, сопряженные с МЭМ действительно широко применяются для лучшего понимания сложности мозговых сетей. Кроме того, применение диссоциированных нейронных скоплений помогает манипулировать и контролировать сетевые межнейрональные связи. Применение диссоциированных нейронных культур сопряженных с МЭМ позволяет создавать эксперименты, в которых нейроны могут быть внеклеточно стимулированы с помощью электрических импульсов, доставляемых

через одинаковые электроды устройства. Таким образом, становится разумным исследовать то, как появившаяся нейронная динамика может быть модулирована электростимуляцией, и, следовательно, модифицированы ли базовые функциональные межнейронные связи или нет (*Poli D. et al, Frontiers in Neural Circuits, 2015, 9 (article 57), 1-14: Functional connectivity in in vitro neuronal assemblies*).

Система МЭМ позволяет неинвазивные долговременные одновременные внеклеточные записи из множества мест в нейронной сети в режиме реального времени, повышая пространственное разрешение и, тем самым, обеспечивая надежное измерение сетевой активности. Одновременный сбор данных потенциала действия и потенциала поля в течение длительных периодов времени позволяет отслеживать сетевые функции, которые возникают при взаимодействии всех клеточных механизмов, ответственных за создание пространственно-временного шаблона (*Johnstone A. F. M. et al., Neurotoxicology (2010), 31: 331-350, Microelectrode arrays: a physiologically based neurotoxicity testing platform for the 21st century*). По сравнению с фиксацией потенциала и других одноэлектродных методик записи, МЭМ измеряет реакцию всей сети, интегрируя глобальную информацию на взаимодействии всех рецепторов, синапсов и нейронных типов, которые присутствуют в сети (*Novellino A. et al., Frontiers in Neuroengineering. (2011), 4(4), 1-14, Development of micro-electrode array based tests for neurotoxicity: assessment of interlaboratory reproducibility with neuroactive chemicals.*). Как таковые, записи МЭМ применяются для понимания нейронной коммуникации, кодирования информации, распространения и обработки в нейронных культурах (*Taketani, M., et al., (2006). Advances in Network Electrophysiology. New York, NY: Springer; Obien et al., Frontiers in Neurosciences, 2015, 8(423): Revealing neuronal functions through microelectrode array recordings*). Технология МЭМ представляет собой сложный фенотипический способ одновременный многопараметрический анализ для исследования активных клеточных культур, которые очень чувствительны к нейрогенезу, а также к нейрогенеративным и нейродегенеративным и

аспектам. Более того, известно, что нейронные сети, выращенные на МЭМ, способны реагировать на нейроактивные или нейротоксичные соединения в приблизительно одинаковых интервалах концентрации, которые изменяют функции целых нервных систем млекопитающих (Xia et al., *Alcohol*, 2003, 30, 167-174: *Histiotypic electrophysiological responses of cultured neuronal networks to ethanol*; Gramowski et al., *European Journal of Neuroscience*, 2006, 24, 455-465: *Functional screening of traditional antidepressants with primary cortical neuronal networks grown on multielectrode neurochips*; Gramowski et al., *Frontiers in Neurology*, 2015, 6(158): *Enhancement of cortical network activity in vitro and promotion of GABAergic neurogenesis by stimulation with an electromagnetic field with 150 MHz carrier wave pulsed with an alternating 10 and 16 Hz modulation*).

Эту методику применяют для оценки действия наночастиц на нейронную сеть.

In vivo исследования сети нейронов

Рассматривается подходящая модель на животных для оценки влияния на нейронные сети животных наночастиц в соответствии с данным изобретением при воздействии электрического стимула.

Например, лабиринты используются для изучения пространственного обучения и памяти у крыс. Исследования с использованием лабиринта помогают раскрыть общие принципы обучения, которые можно применять ко многим видам, включая людей. Сегодня лабиринты обычно используются для определения того, влияют ли различные методы лечения или условия на обучение и память у крыс.

ПРИМЕР 1. Наночастицы, полученные с проводящим материалом: синтез золотых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, имеющим нейтральный заряд поверхности

Золотые наночастицы синтезируют восстановлением хлорида золота (HAuCl_4) защитным веществом (цитратом натрия) (протокол адаптируют из G. Frens *Nature Physical Science* 241 (1973) 21). В типовом эксперименте, раствор HAuCl_4 нагревают до кипения. Затем добавляют раствор цитрата натрия. Полученный раствор выдерживают при кипении в течение дополнительных 5 минут.

Проводят 0,22 мкм фильтрацию (фильтровальная мембрана: поли(эфирсульфон) (ПЭС)) суспензии наночастиц, и концентрацию золота в суспензии определяют УФ-видимой микроскопией при 530 нм.

Покрытые поверхности проводят с применением α -метокси- ω -меркаптополи(этиленгликоля) 20 кДа ("тиол-ПЭГ20кДа"). Достаточное количество "тиол-ПЭГ20кДа" добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем (2,5 молекулы/нм²) на поверхности золотой наночастицы. pH доводят от 7 до 7,2, и суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 118 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,13.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -1 мВ.

ПРИМЕР 2. Наночастицы, полученные с проводящим материалом: синтез золотых наночастиц, покрытых биосовместимым покрытием, имеющим отрицательный заряд на поверхности

Золотые наночастицы получают, как описано в примере 1 (та же золотая неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре, и концентрацию золота в суспензии определяют УФ-видимой микроскопией при 530 нм.

Биосовместимое покрытие поверхности проводят с применением мезо-2,3-димеркаптоянтарной кислоты (ДМЯК). Достаточное количество ДМЯК добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем (2,5 молекулы/нм²) на поверхности золотой наночастицы. pH доводят от 7 до 7,2, и

суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 76 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,46.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -23 мВ.

ПРИМЕР 3. Наночастицы, полученные с изолирующим материалом, имеющим низкую относительную диэлектрическую константу, равную или ниже 100: синтез наночастиц из оксида циркона, покрытых биосовместимым покрытием, имеющим нейтральный заряд поверхности

Наночастицы оксида циркония (ZrO_2) синтезируют осаждением хлорида циркония ($ZrCl_4$) с гидроксидом тетраметиламмония (ТМАОН) при щелочном pH. Полученную суспензию переносят в автоклав и нагревают при температуре выше $110^\circ C$. После охлаждения суспензию промывают деионизированной водой и подкисляют.

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию наночастиц (ZrO_2) определяют сушкой водного раствора в порошок и взвешиванием полученной массы.

Биосовместимое покрытие проводят с применением силан-поли(этилен)гликоля 2 кДа ("Si-ПЭГ 2 кДа"). Достаточное количество "Si-ПЭГ 2 кДа" добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем ($2,5$ молекулы/ nm^2) на поверхности. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде

(конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 55 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,1.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -1 мВ.

ПРИМЕР 4. Наночастицы, полученные с изолирующим материалом, имеющим низкую относительную диэлектрическую константу, равную или ниже 100: синтез наночастиц из оксида циркона, покрытых биосовместимым покрытием, имеющим отрицательный заряд поверхности

Наночастицы оксида циркония получают, как описано в примере 3 (та же неорганическая сердцевина).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию наночастиц (ZrO_2) определяют сушкой водного раствора в порошок и взвешиванием полученной массы.

Функционализацию поверхности проводят с применением гексаметафосфата натрия. Достаточную массу добавляют к суспензии наночастиц для достижения, по крайней мере, половины покрытия монослоем (2,5 молекулы/нм²) на поверхности. Суспензию наночастиц перемешивают в течение ночи и затем pH доводят до 7.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 70 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,11.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -33 мВ.

ПРИМЕР 5. Наночастицы, полученные с полупроводящим материалом: кремниевые наночастицы, покрытые биосовместимым покрытием, имеющим отрицательный заряд поверхности

Кремниевые (Si) наночастицы (порошок) получают от US Research Nanomaterials Inc. Их диспергируют в воде при 30 г/л при облучении ультразвуком (с датчиком).

Проводят 0,22 мкм фильтрацию на ПЭС мембранном фильтре и концентрацию (Si) наночастиц определяют сушкой суспензии в порошок и взвешиванием полученной массы.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 164 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,16.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -19 мВ.

ПРИМЕР 6. Наночастицы, полученные с изолирующим материалом, имеющим высокую относительную диэлектрическую константу, равную или выше 200: наночастицы титаната бария, покрытые биосовместимым покрытием, имеющим отрицательный заряд поверхности

Суспензию наночастиц титаната бария (BaTiO_3) (20% масс. в воде) получают от US Research Materials Inc. (US3835).

Функционализацию поверхности проводят с применением силан-поли(этилен)гликоля 10 кДа ("Si-ПЭГ 10 кДа"). Коротко, "Si-ПЭГ 10 кДа" сначала растворяют в растворе этанол/вода (1/3 об./об.) и добавляют к суспензии BaTiO_3 (20% масс. в воде) с получением полного покрытия монослоя на поверхности наночастиц. Суспензию обрабатывают ультразвуком и затем перемешивают в течение ночи. Затем проводят 0,22 мкм фильтрацию (фильтровальная мембрана:

поли(эфирсульфон)), стадию промывания для удаления непрореагировавших "Si-ПЭГ 10 Кда" полимеров.

Гидродинамический диаметр (параметр в интенсивности) определяют динамическим светорассеянием (ДСР) с применением Nano-Zetasizer (Malvern) при угле светорассеяния 173° с испусканием лазера при 633 нм, разведением суспензии наночастиц в воде (конечная концентрация: 0,1 г/л). Полученный таким образом гидродинамический диаметр биосовместимых золотых наночастиц в суспензии равен 164 нм, при коэффициенте полидисперсности (дисперсия популяции наночастиц в размере) 0,16.

Зета потенциал определяют измерением электрофоретической подвижности наночастиц (Nano-Zetasizer, Malvern) разведением суспензии наночастиц в растворе NaCl при 1 мМ при pH 7 (конечная концентрация: 0,1 г/л). Зета потенциал при pH 7 равен -11 мВ.

ПРИМЕР 7. Исследование долговременной пластичности с применением электростимулирования нейронов лобной доли с МЭМ и функциональная оценка наночастиц в соответствии с данным изобретением

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нейрочипы на микроэлектродной матрице

48-ячеистые нейрочипы на микроэлектродной матрице покупают у Axion Biosystems Inc. Эти чипы имеют 16 пассивных электродов на ячейку. Поверхность покрывают в течение 1 часа полиэтиленгликолем (ПЭГ, 50% в боратном буфере), промывают и сушат на воздухе.

Первичная клеточная культура, условия обработки и электростимуляции

Ткань лобной доли собирают у эмбриона мыши chr:NMRI на 15/16 день (Charles River). Мышей умерщвляют цервикальной дислокацией. Ткань диссоциируют ферментативным перевариванием (133,3 единиц Куница/мл ДНазы; 10 единиц/мл папаина) и механически растирают, подсчитывают, контролируют жизнеспособность и помещают в 20 мкл капли DMEM, содержащей ламинин (10 мкг/мл), 10% фетальной бычьей сыворотки и 10% лошадиной сыворотки, на МЭМ. Культуры на МЭМ инкубируют при 37°C

в 10% CO₂ атмосфере до готовности к применению. Развившиеся со- культуры обрабатывают ингибиторами митоза 5-фтор-2'-деоксиуридином (25 мкМ) и уридином (63 мкМ) на 5 день после высевания для предотвращения дальнейшей глиальной пролиферации. Культуральную среду снова наполняют два раза в неделю DMEM, содержащей 10% лошадиную сыворотку.

Лобную долю культивируют в течение 26 дней (период культивирования, также называемый "нативная фаза"). Количество активных ячеек подсчитывают, и добавляют суспензии наночастиц (800 мкМ) (группы "Наночастицы") или воду (группа "Контроль") в активные ячейки. Через 2 дня (48 часов) инкубирования активность записывают в течение 2 часов (запись "Пред-стим"), затем проводят 30-минутную низкочастотную стимуляцию (НЧС-1) (стадия i)) и 90-минутную низкочастотную стимуляцию (НЧС-2) (стадия ii)), с или без промежуточной стадии i') (после стадии i) и до стадии ii)) тетанической стимуляции (высокая частота, ВЧС) в течение 5 минут. После нативной фазы два активных электрода идентифицируют на ячейку и выбирают для стимулирования. Один из них стимулируют НЧС на стадиях i) и ii), и оба электрода стимулируют ВЧС на стадии i'). Запись проводят во время стадии i) (значения получают из 60 секунд сгруппированных данных, полученных из 30 минутного периода) и стадии ii) (значения получают из 60 секунд сгруппированных данных, полученных из 30 минутного периода после 60 минутной НЧС) (см. фигуру 5).

Параметры электростимуляции

Низкочастотная стимуляция (стадии i) и ii)): 30 минут или 90 минут

Стимуляция одного электрода на ячейку в 48-ячеистой МЭМ

Минимальная длительности стимуляции: 100 мкс

Искусственная элиминация 2 мс после импульса

1 импульс (двухфазный) при +/- 500 мВ (частота 0,2 Гц)

Высокочастотная стимуляция (стадия i')): 5 минут

Стимуляция одного электрода на ячейку в 48-ячеистой МЭМ

Минимальная длительности стимуляции: 100 мкс

Minimum stimulation duration: 100 μ s

Искусственная элиминация 2 мс после импульса

11 импульсов (двухфазных) при ± 500 мВ (частота 20 Гц) и период последовательности импульсов (частота 0,2 Гц)

Многоканальная запись и многопараметрический анализ данных

Для записи применяют многоканальную систему записи MAESTRO от Axion Biosystems (USA). Для внеклеточной записи 48-ячеистые МЭМ помещают в станцию записи MAESTRO и выдерживают при 37°C. Записи делают в DMEM/10% инактивированной теплом лошадиной сыворотки. pH поддерживают на уровне 7,4 при непрерывном потоке или фильтрованного, увлажненного воздуха с 10% CO₂.

Каждую единицу, представляющую активность, происходящую из одного нейрона, записывают на одном электроде. Единицы разделяют в начале записи. Для каждой единицы потенциалы действия (т.е. всплески) записывают как последовательность всплесков, которые собирают в так называемые "вспышки". Вспышки количественно описывают через анализ прямой последовательности всплесков с применением программ Spike Wrangler и NPWaveX (обе от NeuroProof GmbH, Rostock, Germany). Вспышки определяют началом и концом коротких всплесков (см. фигуру 6).

С помощью многопараметрического анализа высокого содержания шаблонов активности сети выделяют 204 параметров, описывающих активность последовательности всплесков. Эти параметры позволяют точно описать изменения активности в следующих четырех категориях: общая активность, структура вспышки, режим колебаний и синхронность.

- Изменения в "параметрах общей активности" описывают действие частоты испускания потенциала действия (скорость всплеска), скорость вспышки и период вспышки как время между вспышками.

- "Параметры структуры вспышки" определяют не только внутреннюю структуру всплесков в высокочастотной фазе всплесков ("вспышке"), например, частоту всплесков в вспышках, скорость всплесков в вспышках и плотность вспышки всплесков, но также общую структуру вспышки, такую как длительность, площадь и плато.

- "Параметры колебаний" количественно оценивают регулярность возникновения или структуру всплесков, которую рассчитывают через коэффициенты вариации параметров первичной активности, описывающих вариабельность параметров (общая активность, структура всплески) в экспериментальных эпизодах (*Gramowski A. et al., Eur. J. Neurosci., 2004, 19, 2815-2825: Substance identification by quantitative characterization of oscillator activity in murine spinal cord networks on microelectrode arrays*). Более высокие значения показывают менее регулярную структуру всплески или менее регулярную общую активность (например, пульсацию, испускание всплесков).

Как показатель синхронности последовательностей всплесков, "параметры КВсеть" отражают "синхронизацию" среди нейронов в сети (*Gramowski A. et al., Eur. J. Neurosci., 2004, 19, 2815-2825: Substance identification by quantitative characterization of oscillator activity in murine spinal cord networks on microelectrode arrays*). КВсеть является коэффициентом вариации по всей сети. Большие значения КВсеть означают широкий спектр вариаций в активности в сети, означая меньшую синхронизацию. (*Gramowski A. et al., Frontiers in Neurology, 2015, 6(158): Enhancement of cortical network activity in vitro and promotion of GABAergic neurogenesis by stimulation with an electromagnetic field with 150 MHz carrier wave pulsed with an alternating 10 and 16 Hz modulation*).

Функциональные эффекты, вызванные высокочастотной стимуляцией (ВЧС) на нейронной сети, в присутствии или отсутствии наночастиц в соответствии с данным изобретением, оценивают через описанные выше параметры (также обобщены для некоторых из них в таблице 1 ниже).

Таблица 1: Параметры, описывающие активность, из многопараметрического анализа данных в следующих категориях: общая активность и режим колебаний.

Общая активность	Скорость всплеска	Количество всплесков в секунду, среднее для всех записанных последовательностей всплесков
------------------	-------------------	---

	Скорость вспышки	Количество вспышек в минуту, среднее для всех записанных единиц
	Скорость события	Количество событий в минуту. Событие определено как синхронная активность вспышки, по крайней мере, 50% от всех единиц в сети в период времени 300 мс
Режим колебаний	Длительность вспышки CO	Стандартное отклонение длительности вспышки, отражающее вариабельность длительности вспышки в экспериментальных эпизодах.
	Площадь вспышки CO	Стандартное отклонение площади под кривой после интегрирования вспышки, определенного длительностью вспышки, количество всплесков во вспышках, частота всплесков во вспышках. Параметр описывает вариабельность площади вспышки в экспериментальных эпизодах. Более высокие значения показывают менее регулярную структуру вспышки.
	Количество вспышек всплесков CO	Стандартное отклонение количества всплесков во вспышках описывает изменение количества всплесков одной единицы во вспышке в экспериментальных эпизодах. Более низкие значения являются показателем низшей степени изменения в количестве всплесков во вспышке, то есть более регулярную структуру вспышки.
	Скорость вспышки CO	Стандартное отклонение количества вспышек в минуту, показывающее вариабельность способности к вспышкам единиц в экспериментальных

		эпизодах.
--	--	-----------

Функциональное действие на активность сети во время НЧС-2 (стадия ii), то есть после стадии ВЧС i'), в присутствии тестируемых наночастиц или в их отсутствие, было нормализовано до активности "НЧС-1", т.е. активности, измеренной во время низкочастотной стимуляции на стадии i). Значения получают из 60 секундных сгруппированных данных, полученных в 30 минутный период. Результаты (значения параметров) выражены как среднее $\pm$ СОС независимых сетей. Для каждой группы "Наночастицы" или группы "Контроль", по крайней мере, 8 активных ячеек ("активная" означает ячейку с достаточным количеством электродов, измеряющих электрическую активность) были включены в анализ. Распределения абсолютных параметров тестировали на нормальность, и статистическую значимость между группами оценивали однопараметрическим ANOVA.

Фигуры 7 и 8 представляют некоторые типовые параметры (общая активность и режим колебаний), характеризующие функциональное действие, вызванное ВЧС для групп "Контроль" и групп "Наночастицы" (наночастицы из примера 1 и из примера 3). Повышение этого действия по сравнению с действием в группах "Контроль" в присутствии наночастиц на клеточном уровне показывает потенцирующий эффект благодаря этим наночастицам.

Фигура 7 показывает, что предварительная обработка нейронной сети наночастицами из примера 3 и обработка высокочастотной электростимуляцией (ВЧС) повышает функциональное действие по сравнению с группами "Контроль". Интересно, что улучшенное функциональное действие наблюдается для параметров, принадлежащих к категории общей активности (обычно "скорость вспышки" и "скорость события"), и они достигают уровней выше тех, которые наблюдают у ВЧС-стимулированной группы "Контроль". Это показывает специфическое к наночастицам ВЧС-медиаторное потенцирование, которое может быть коррелировано с улучшением эффективных связей в сети и, следовательно, с улучшением возможности памяти нейронной сети.

Фигура 8 показывает, что предварительная обработка нейронной сети наночастицами из примера 1 и обработка высокочастотной электростимуляцией (ВЧС) повышает функциональное действие по сравнению с группами "Контроль". Интересно, что улучшенное функциональное действие наблюдается для параметров, принадлежащих к категории режим колебаний (обычно "длительность вспышки CO", "площадь вспышки CO" и "количество всплесков вспышки CO"), и они достигают более благоприятных уровней чем те, которые наблюдают у ВЧС-стимулированной группы "Контроль". Это показывает специфическое к наночастицам ВЧС-медиированное потенцирование, которое может быть коррелировано с реструктурированными вспышками, способствующими хранению информации в сети и, следовательно, улучшением возможности памяти нейронной сети.

Эти результаты подчеркивают преимущественные характеристики наночастиц, описанных в данной заявке, в улучшении функционального действия (связи нейронов и хранении информации в нейронной сети), вызванном электростимуляцией в нейронной сети.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Наночастица или агрегат наночастиц для применения в улучшении деятельности мозга или в профилактике или лечении патологического стресса у субъекта, когда наночастицу или агрегат наночастиц подвергают воздействию электрического поля, где материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

2. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 1, где электрическое поле применяют путем транскраниальной электростимуляции или транскраниальной магнитной стимуляции.

3. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 1 или 2, где материалом наночастицы или агрегата наночастиц является проводящий материал, выбранный из металла, имеющего стандартный потенциал восстановления E выше 0,2, и органического материала, имеющего в своей структуре соседние sp^2 -гибридизированные углеродные центры.

4. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 3, где материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из металлической наночастицы, где металлическим элементом является Ir, Pd, Pt, Au или их смесь, и органической наночастицы, состоящей из полианилина, полипиррола, полиацетилена, политиофена, поликарбазола и/или полипирена.

5. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 1 или 2, где материалом наночастицы или агрегата наночастиц является полупроводящий материал с запрещенной зоной E_g ниже 3,0 эВ.

6. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 5, где материал наночастицы или агрегата наночастиц состоит из элемента из группы IVA Периодической таблицы Менделеева, или смешанной композиции элементов из групп III и V периодической таблицы Менделеева, или из смешанной композиции

элементов из группы II и VI периодической таблицы Менделеева.

7. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 6, где материал наночастицы или агрегата наночастиц состоит из элемента из группы IVA Периодической таблицы Менделеева и легирован носителем заряды, выбранным из Al, B, Ga, In и P.

8. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 1 или 2, где материалом является изолирующий материал с запрещенной зоной E_g , равной или выше 3,0 эВ, а относительную диэлектрическую константу ϵ_{ijk} измеряют при температуре от 20°C до 30°C и частоте от 10^2 Гц вплоть до инфракрасной частоты.

9. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 8, где материалом является изолирующий материал с запрещенной зоной E_g , равной или выше 3,0 эВ, а относительная диэлектрическая константа ϵ_{ijk} равна или выше 200, и материалом наночастицы или агрегата наночастиц является диэлектрический материал, который является смешанным оксидом металла, выбранным из $BaTiO_3$, $KTaNbO_3$, $KTaO_3$, $SrTiO_3$ и $BaSrTiO_3$.

10. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по пункту 8, где материалом является изолирующий материал с запрещенной зоной E_g , равной или выше 3,0 эВ, а относительная диэлектрическая константа ϵ_{ijk} равна или ниже 100, и материалом наночастицы или агрегата наночастиц является диэлектрический материал, который выбирают из оксида металла, смешанного оксида металла, элемента-металла, который относится к периоду 3, 5 или 6 Периодической таблицы Менделеева или является лантанидом, и углеродного материала.

11. Наночастица или агрегат наночастиц для применения по любому из пунктов 1-10, где наночастица или агрегат наночастиц предназначены для применения в улучшении физических свойств или для улучшения обучения, запоминания, чувственного восприятия, внимания и/или принятия решений у субъекта.

12. Композиция для применения в улучшении деятельности мозга или профилактике или лечении патологического стресса у субъекта, находящегося под воздействием электрического поля, где

композиция содержит наночастицы и/или агрегаты наночастиц и фармацевтически приемлемую подложку, и где материал наночастицы или агрегата наночастиц выбирают из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

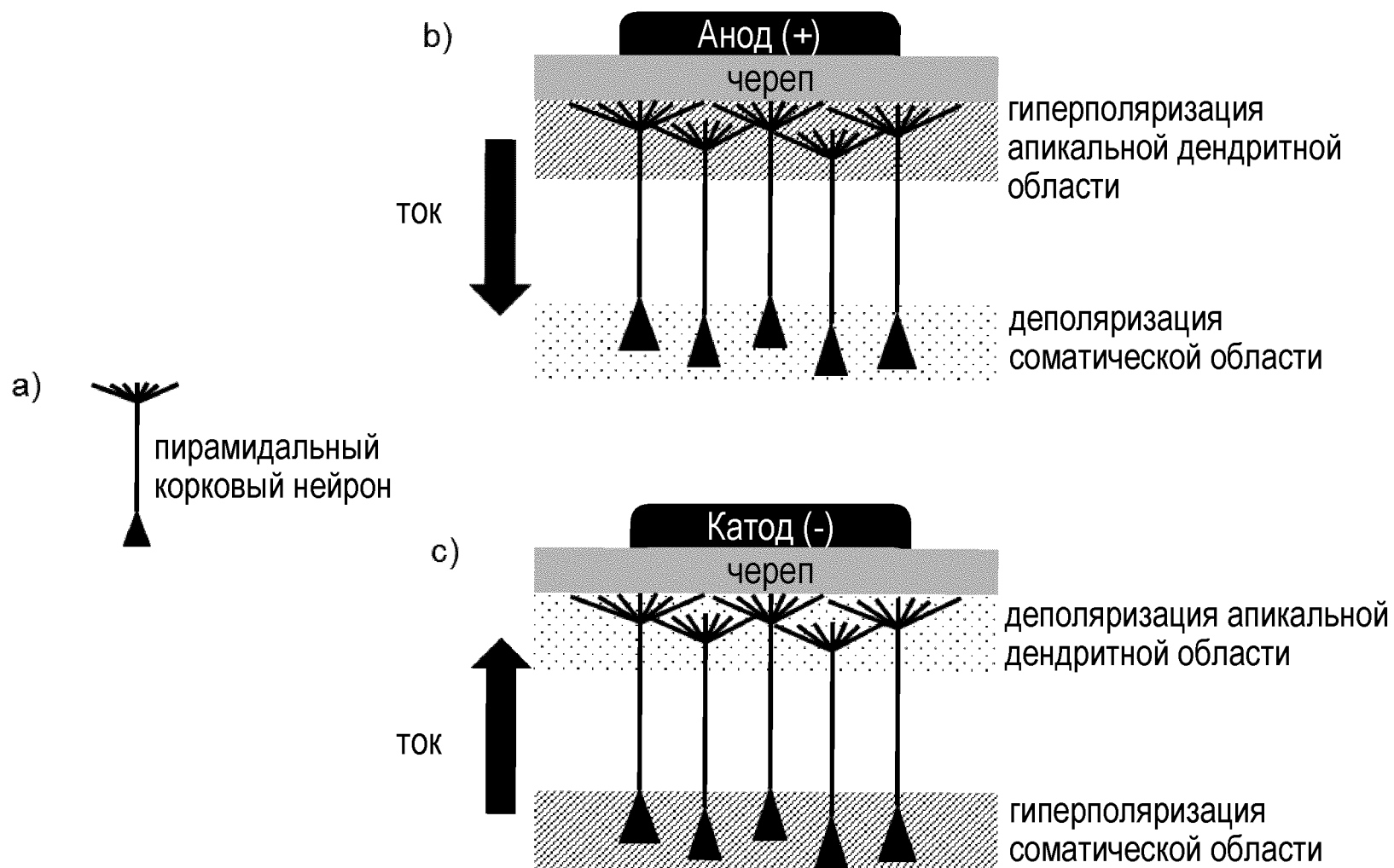
13. Композиция для применения по пункту 12, где композиция содержит, по крайней мере, две разных наночастицы и/или агрегата наночастиц, причем каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из разных материалов, выбранных из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

14. Набор, содержащий, по крайней мере, две разные наночастицы и/или агрегата наночастиц, где каждая наночастица или агрегат наночастиц состоит из разных материалов, выбранных из проводящего материала, полупроводящего материала, изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или выше 200, и изолирующего материала с диэлектрической константой ϵ_{ijk} равной или ниже 100.

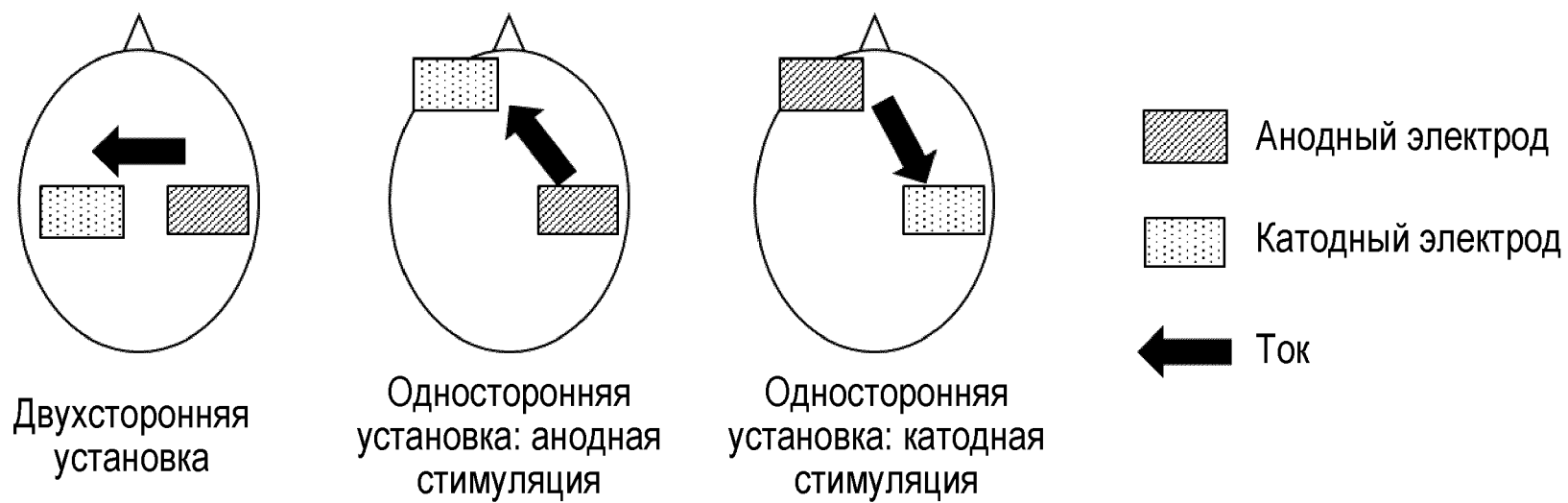
15. Набор по пункту 14 для применения в улучшении деятельности мозга или в профилактике или лечении патологического стресса у субъекта.

По доверенности

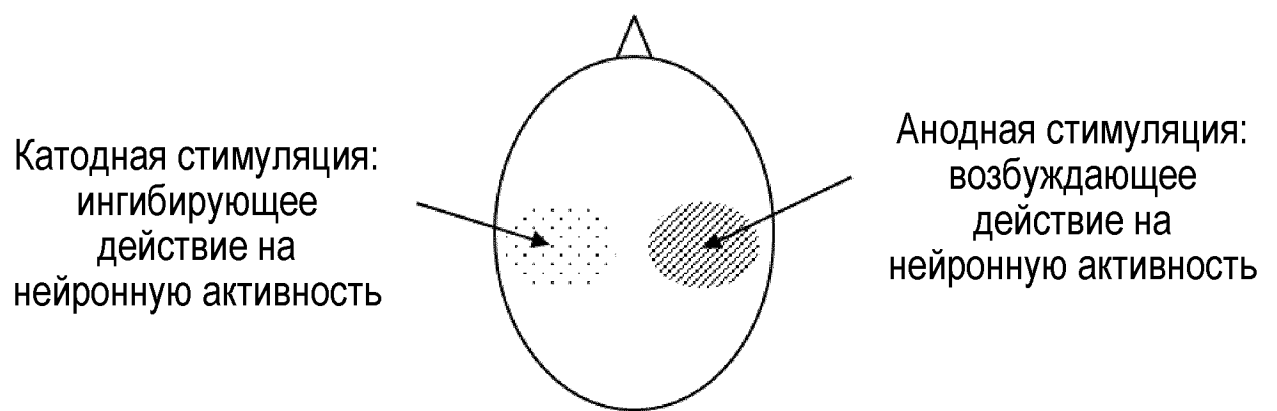
ФИГ.1



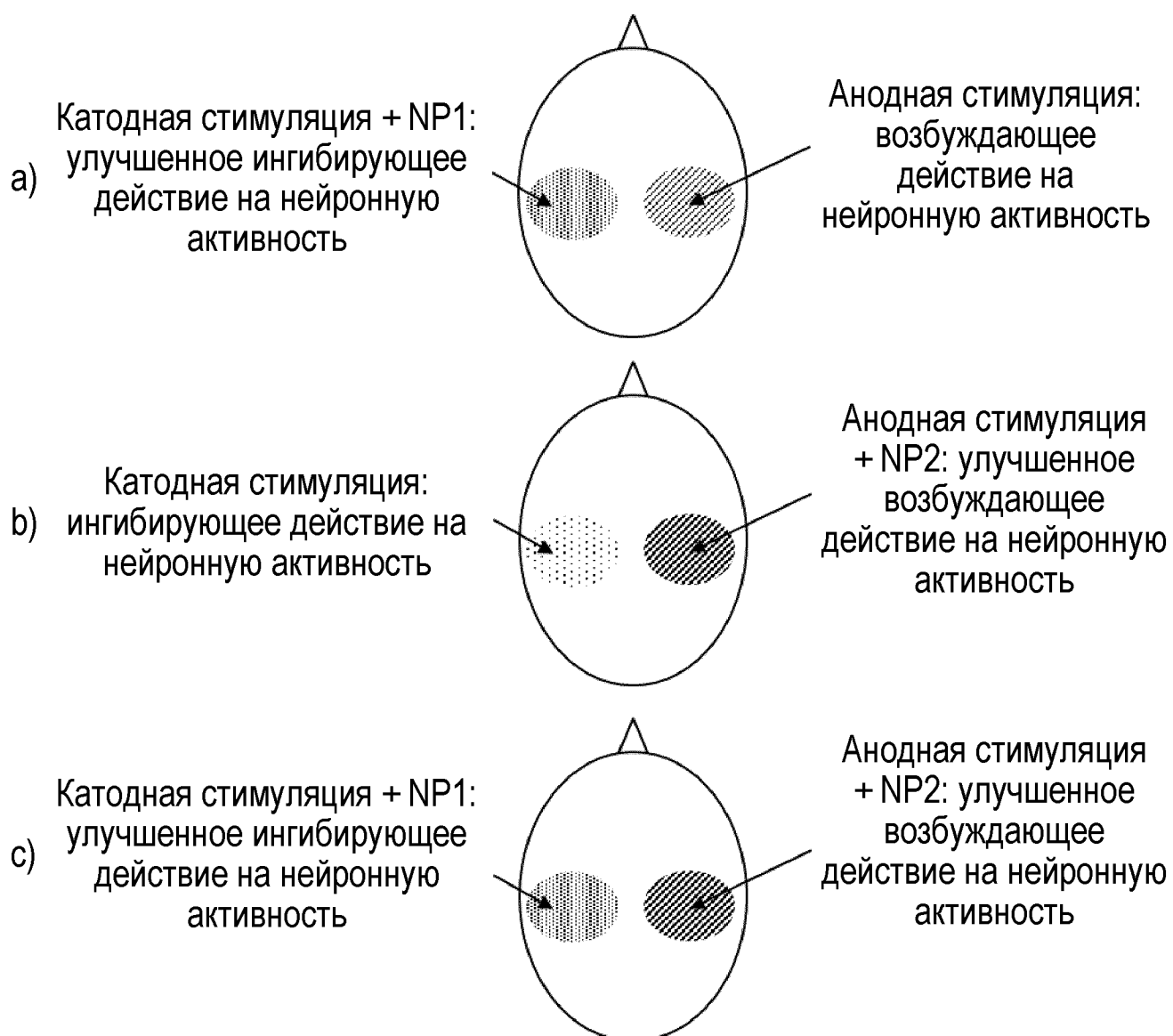
ФИГ.2



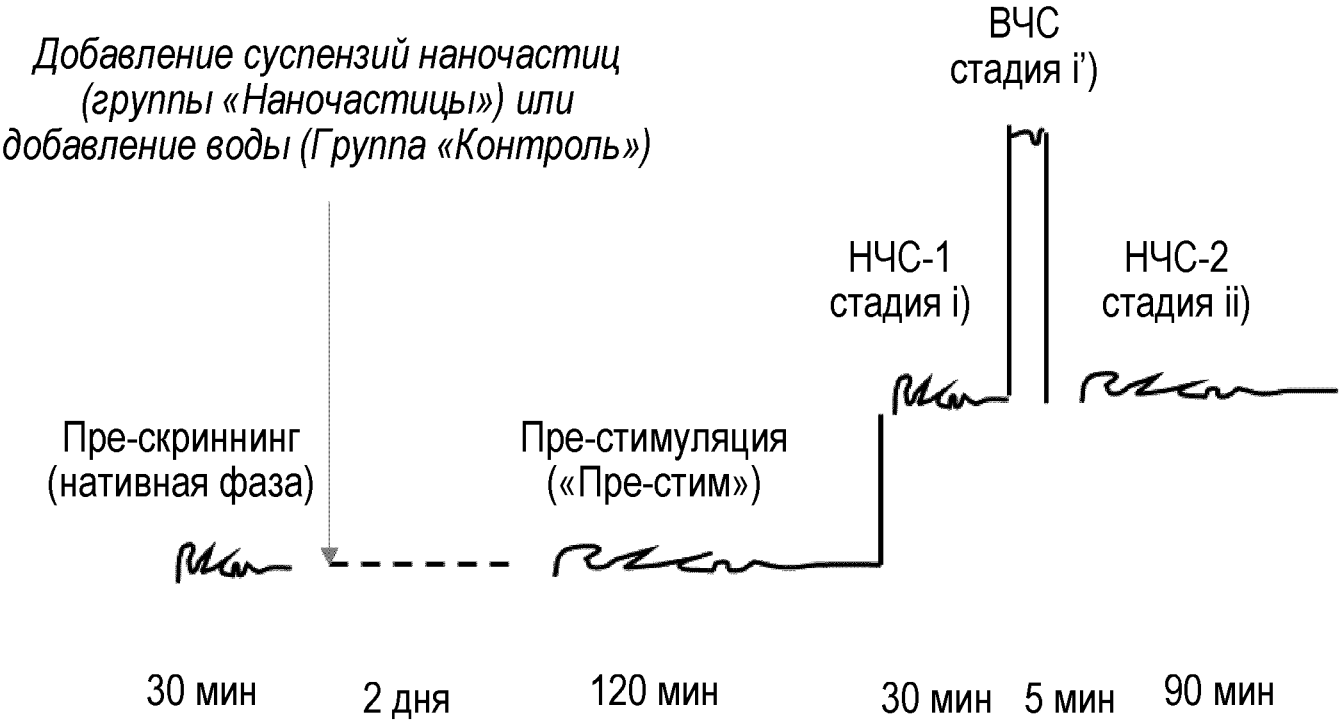
ФИГ.3



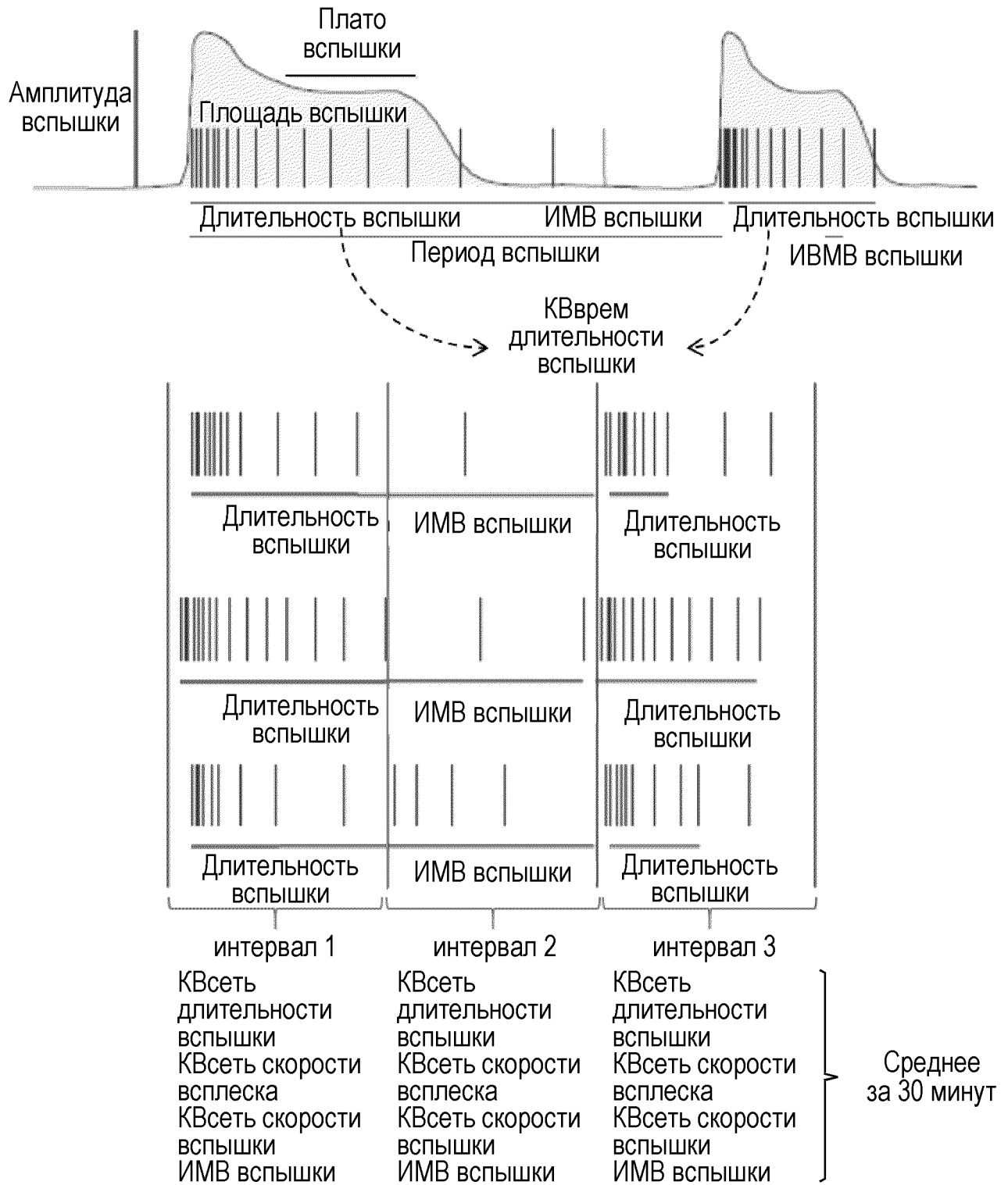
ФИГ.4



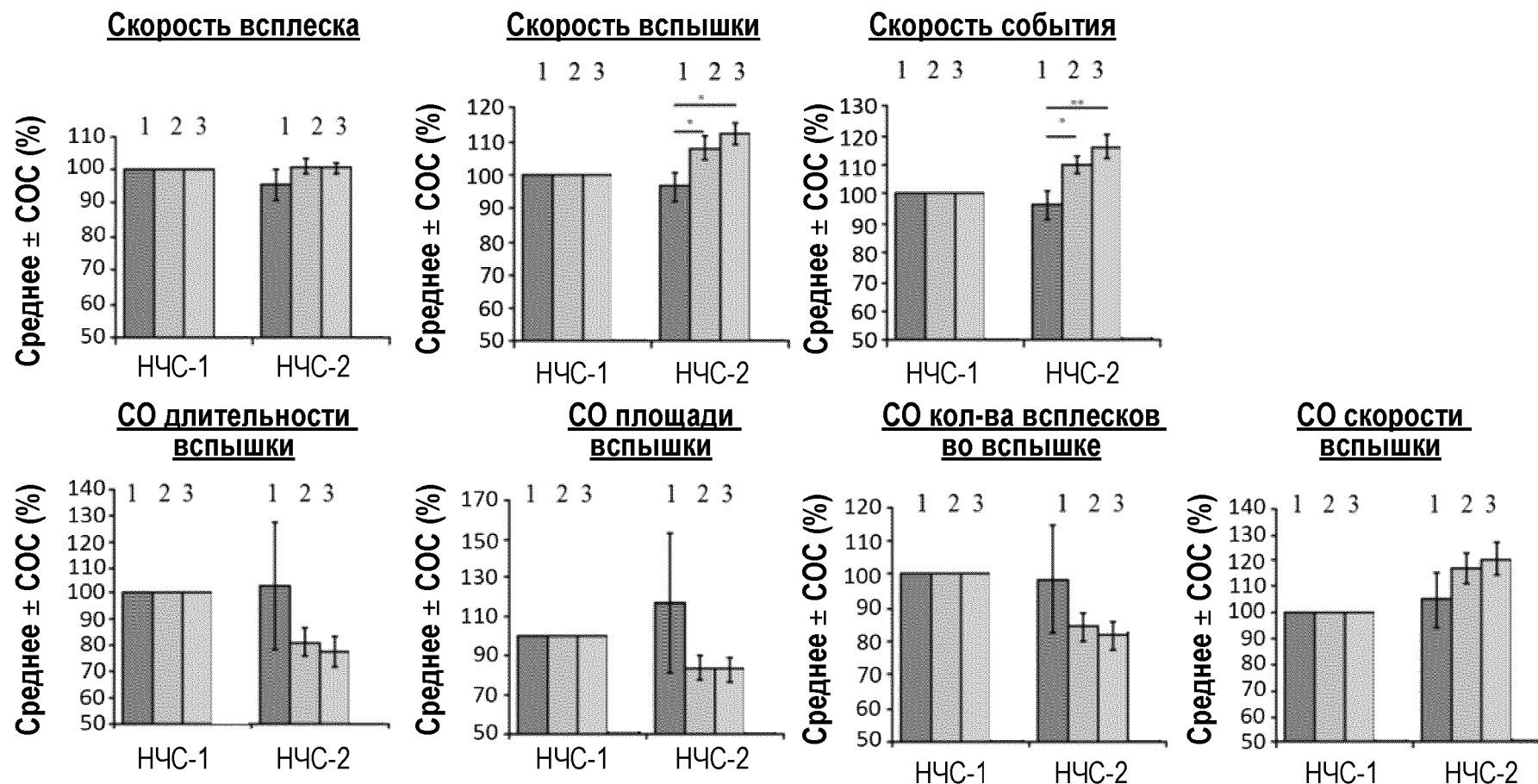
ФИГ.5



ФИГ.6

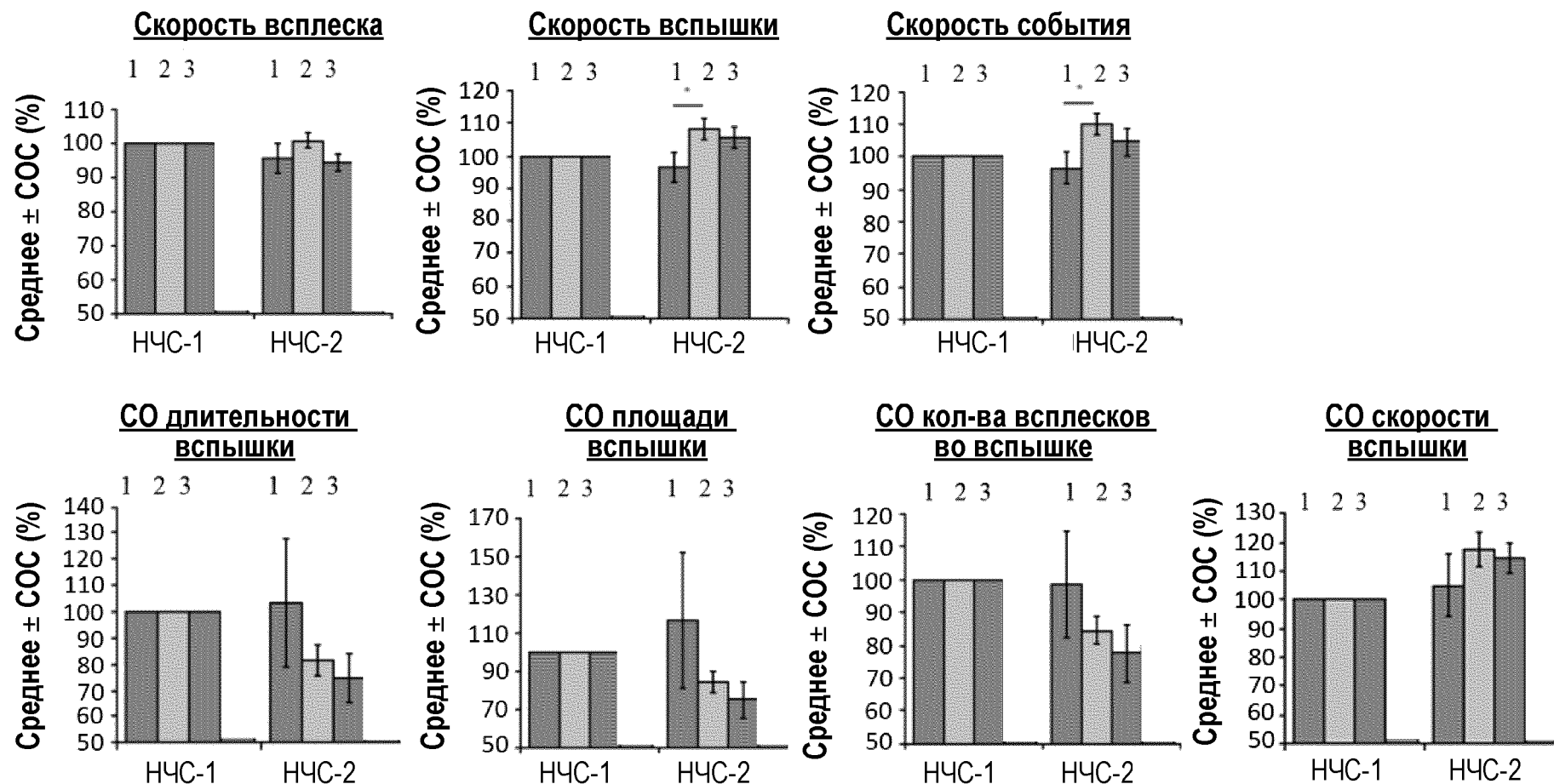


ФИГ.7



- 1: Группа «Контроль» без ВЧС (стадия i) и стадия ii))
- 2: Группа «Контроль» с ВЧС (стадия i), стадия i') и стадия ii))
- 3: Группа «Наночастицы» с ВЧС (стадия i), стадия i') и стадия ii)): наночастицы ZrO_2 из примера 3

ФИГ.8



- 1: Группа «Контроль» без ВЧС (стадия i) и стадия ii))
- 2: Группа «Контроль» с ВЧС (стадия i), стадия I') и стадия ii))
- 3: Группа «Наночастицы» с ВЧС (стадия i), стадия I') и стадия ii)): наночастицы золота из примера 1