



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **131037** (13) **C2**

(51) МПК (2026.01)

A61K 41/00**A61N 2/00****A61N 1/36** (2006.01)**A61N 1/04** (2006.01)**A61P 43/00**

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2019 08275	(72) Винахідник(и):	Леві Лоран (FR), Мер Марі-Едіт (FR), Поттьє Аньєс (FR)
(22) Дата подання заявки:	19.12.2017	(73) Володілець (володільці):	НАНОБІОТІКС, 60 rue de Wattignies, 75012 Paris, France (FR)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності:	23.07.2026	(74) Представник:	Бреус Наталія Володимирівна, реєстр. №167
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	16306752.3	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	RAKESH G. Magnetolectric 'spin' on stimulating the brain // Nanomedicine. July 2015. Vol. 10. No. 13. P. 2051-2061. DOI: 10.2217/nnm.15.52 US 2013/317279 A1, 28.11.2013 US 2013/320273 A1, 05.12.2013 WO 2006/126771 A1, 30.11.2006 BORDUCCHI D. M. M. et al. Transcranial Direct Current Stimulation Effects on Athletes' Cognitive Performance: An Exploratory Proof of Concept Trial // Frontiers in Psychiatry. 30.11.2016. Vol. 7. Article 183. P. 1-5. DOI: 10.3389/fpsy.2016.00183 Методичні вказівки до лабораторних робіт з дисципліни "Матеріали мікро- та наноелектроніки" для студентів спеціальностей 152 – "Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка" 153 – "Мікро- та наносистемна техніка", денної і заочної форм навчання / уклад.: Г.В. Сніжної. Запоріжжя: НУ Запорізька політехніка, 2020. С. 15. URL.: https://eir.zp.edu.ua/server/api/core/bitstreams/f250ef02-be9e-4ca8-8b44-84406e6babf9/content (дата звернення 21.04.2025) YOUNG K. F. et al. Compilation of the Static Dielectric Constant of Inorganic Solids // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1973. Vol. 2. No. 2. P. 321, 333, 348. DOI: 10.1063/1.3253121 UA 106111 C2, 25.07.2014
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	21.12.2016		
(33) Код держави- учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	EP		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.11.2019, Бюл.№ 22		
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію:	22.07.2026, Бюл.№ 29		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/EP2017/083608, 19.12.2017		

(54) ЗАСТОСУВАННЯ НАНОЧАСТИНКИ АБО АГРЕГАТУ НАНОЧАСТИНОК ДЛЯ ПОЛІПШЕННЯ НАВЧАННЯ, ЗАПАМ'ЯТОВУВАННЯ ТА УВАГИ**(57) Реферат:**

Даний винахід належить до галузі медицини, зокрема стосується поліпшення навчання, запам'ятовування та уваги у індивідуума, який потребує цього. Більш конкретно, стосується

UA 131037 C2

застосування наночастинки або агрегату наночастинок, коли їх піддають впливу електричного поля шляхом транскраніальної електростимуляції або транскраніальної магнітної стимуляції, де матеріал наночастинки або агрегату наночастинок являє собою золото (Au), титанат барію (BaTiO_3), оксид цирконію (ZrO_2) або оксид гафнію (HfO_2).

Даний винахід належить до галузі медицини, зокрема, до поліпшення діяльності мозку і до лікування патологічного стресу. Більш конкретно, даний винахід належить до наночастинки або агрегату наночастинки для застосування з метою поліпшення діяльності мозку або профілактики, або лікування патологічного стресу у суб'єкта, коли наночастинка або агрегат наночастинок зазнають впливу електричного поля/стимулу, де матеріал наночастинки або агрегат наночастинок вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100. Він також належить до композицій і наборів, що містять такі наночастинки і/або агрегати наночастинок, а також до їх застосування.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

З розвитком розуміння нейробіології, мозок можна представити як електричну мережу, що кодує і що передає інформацію по своїм електричним дротам - нейронам. Зв'язок між нейронами простий і складний одночасно: простий, тому що він оснований на припливі/відтоку іонів усередині нейронів, які призводять до потенціалів дії (або "сплесків" електричної активності); складний, тому що мережа мозку складається із сотень мільярдів нейронів, які утворюють вузли, центри і модулі, які демонструють скоординовані взаємодії в різних просторових і часових масштабах (Fornito et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2015, 16, 159-172: The connectomics of brain disorders). Нейронний зв'язок залежить від анатомічних компонентів, які з'єднують окремі нейрони (структури), і від процесу передачі інформації (функції). Обидва аспекти впливають на загальну діяльність нервової системи. Нейронні взаємодії передаються коливаннями патерну електричної активності мозку, де коливання зазвичай вимірюються за допомогою електроенцефалограми (ЕЕГ). Спостерігаються різні смуги частот коливань: дельта, тета, альфа, бета, гамма (Ward et al., *Trends in Cognitive Sciences*, 2003, 7(12), 553-559: Synchronous neural oscillations and cognitive processes). У структурному відношенні найбільш яскравою нейроанатомічною особливістю мозку є інтенсивний зв'язок між нейронами, що відображає важливість нейронної комунікації. Представляється, що синхронізація коливань ("синхронність") між однією ділянкою мозку та іншою становить останній рівень інформаційного кодування [перший рівень (нейрон): потенціали дій; другий рівень (нейронна мережа(i)): нейронні коливання] привносячи просторово-часову координацію (Engel et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2001, 2, 704-716: Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing). Важливо відзначити, що з'являються докази того, що тонко збалансована схема синхронізації і десинхронізації в просторі і часі є фундаментальною для функціональної діяльності нервової системи (Schnitzler et al., *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6, 285-296: Normal and pathological oscillatory communication in the brain).

Розвиток певних навичок, креативності або генерації ідей у певних людей, а не в інших, є чимсь дуже загадковим, і дотепер не пояснене. Однак вивчення деяких захворювань і їх симптомів може допомогти зрозуміти функціонування "нормального" і "аномального" мозку. Наприклад, було відзначено, що люди з нейродегенеративним захворюванням, таким як лобово-скронева деменція, розвивають навички малювання і живопису з розвитком свого захворювання (Miller et al., *Neurology*, 1998, 978-982: Emergence of artistic talent in frontotemporal dementia). Декілька публікацій демонструють, що схильність до неврологічного захворювання, такого як біполярний розлад, шизофренія або аутизм, вища в людей (і їх родичів першого ступеня), що працюють у креативній галузі (інженерія, Джерела інформації: живопис), ніж у "не креативних 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"). Були розроблені декілька моделей для опису процесу створення і генерації ідей: напівкульова модель, яка припускає, що не домінуюча півкуля спеціалізується на креативній діяльності, або, останнім часом, лобово-скронева модель, яка припускає, що зміни в скроневої частці можуть підсилити процес генерації ідей, тоді як зміни в лобовій частці можуть послабити його (Flaherty et al., *J Comp Neurol*, 2005, 493(1), 147-153: Frontotemporal and dopaminergic control of idea generation and creative drive). Дійсно, деякі вчені можуть виконувати складні чисельні розрахунки, у той же час відчуваючи недолік знань в елементарній арифметиці (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). Цікаво, що є свідчення того, що така незвичайна здатність пов'язана з гальмуванням лівої (домінантної) півкулі разом зі сприянням правій (недомінантній) півкулі (Treffer 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 чином, мозок являє собою динамічну систему, у якій специфічні стани функціонування мозку походять із комплексних збудливих і гальмуючих взаємодій між популяціями нейронів. У такому випадку, "аномальний" стан відображає дисбаланс між комплексними збудливими і гальмуючими взаємодіями між нейронними популяціями (Kapur et al., Brain, 1996, 119, 1775-1790: Paradoxical functional facilitation in brain-behaviour research, a critical review).

У цей час модуляція електричної активності нейронів (нейромодуляція) може бути викликана за допомогою електростимуляції. Існуючі методики одержання електричного стимулу в мозку використовують або пряму електростимуляцію, або індукцію електричного поля через застосування електричного струму через магнітну котушку.

Транскраніальну мікрополяризацію (ТКМП) уже застосовували для тестування впливу електростимуляції на діяльність мозку і фізичні навички. Коротко, ТКМП полягає в застосуванні безперервного слабого струму на поверхні черепа, через губчаті електроди на двох різних ділянках мозку, де одна стимулюється анодом, інша стимулюється катодом. Декілька дослідів показали, що при застосуванні електродів на поверхні черепа і струму менше 2 мА протягом менше 30 хв у людей, зайнятих різними задачами, такими як математичне навчання, короточасна пам'ять, вивчення мови або набуття рухових навичок, поліпшення ефективності цієї задачі спостерігалось в порівнянні з фіктивною стимуляцією (Filmer et al., Trends in Neurosciences, 2014, 37(12), 742-753: Applications of transcranial direct current stimulation for understanding brain function). Команда з Дослідницької лабораторії ВПС Міністерства оборони США нещодавно продемонструвала, що застосування анодної ТКМП для військових операторів при 2 мА протягом 30 хвилин у лівій дорзолатеральній префронтальній корі (пов'язаній з постійною увагою, короточасною пам'яттю, прийняттям рішень, плануванням і міркуванням) значно поліпшує здатність учасників до багатозадачності (Nelson et al., Front. Hum. Neurosci., 2016, 10:589: The effects of transcranial direct current stimulation on multitasking throughput capacity).

Також було показано, що транскраніальна мікрополяризація викликає корисні нейронні ефекти, які дають поліпшення моторної поведінки, а саме реабілітації фізичних здатностей у випадку удару (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 здорових людей електростимуляція розглядається як засіб для поліпшення, збільшення або підвищення фізичних характеристик/можливостей (Banissy et al., Frontiers in Human Neuroscience, 2013, 7(129), 1-3: Transcranial direct current stimulation in sports training: potential approaches).

Електричне стимулювання мозку є цікавим способом поліпшення діяльності/можливостей мозку.

Нещодавно були запропоновані неінвазивні методи нейронної стимуляції, такі як використання світла або ультразвуку для прямої стимуляції нейронів.

Цікаво, що були досліджені наноматеріали з унікальними властивостями як посередник для перетворення бездротового первинного стимулу в локалізований вторинний стимул, в основному, електричне поле або тепло, на границі поділу наноматеріал-нейрон (Wang Y. & Guo L. Nanomaterial-enabled neural stimulation. Frontiers in Neuroscience. 2016; vol. 10, Article 69).

Таким чином, була продемонстрована оптоелектрична трансдукція з використанням квантових точок, оптоермічна трансдукція з використанням золотих наноматеріалів, магнітоелектрична трансдукція з використанням магнітоелектричних наночастинок, магнітоермічна трансдукція з використанням суперпарамагнітних наночастинок і акустоелектрична трансдукція з використанням п'єзоелектричних наноматеріалів.

Наприклад, магнітоелектричні (МЕ) наночастинки є композитними наночастинками, що володіють п'єзоелектричними і магнітострикційними властивостями. Конкретно, МЕ-ефект, створюваний, наприклад, наночастинками $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$, виникає при об'єднанні дії двох різних матеріалів, тобто магнітострикційного (CoFe_2O_4) матеріалу і п'єзоелектричного (BaTiO_3) матеріалу. Більш точно, якщо наночастинки $\text{CoFe}_2\text{O}_4\text{-BaTiO}_3$ зазнають впливу магнітного поля, то: по-перше, магнітострикційний матеріал змінює свою довжину (об'єм), тим самим викликаючи локальний стрес, по-друге, п'єзоелектричний матеріал створює електричну поляризацію (заряд) у результаті реакції на цей локальний стрес. Ні магнітострикційний матеріал, ні п'єзоелектричний матеріал не здатні самі створювати МЕ-ефект або електричну поляризацію під впливом магнітного поля, що пояснюється в Grössinger R. et al.(Grössinger R. et al., Journal of

Magnetism and Magnetic Materials, 2008, 320, 1972-1977: The physics of magnetoelectric composites).

Даний винахід належить до наночастинок і/або агрегатів наночастинок (агрегатів наночастинок) для застосування в/для збільшення, підвищення або поліпшення діяльності/здатностей мозку для профілактики або лікування/для застосування в профілактиці або лікуванні патологічного стресу або принаймні одного його симптому, де наночастинок або агрегат наночастинок зазнає впливу електричного поля/стимулу. Електричне поле зазвичай застосовують за допомогою транскраніальної електростимуляції (ТЕС) або транскраніальної магнітної стимуляції (ТМС).

Наночастинок або агрегати наночастинок поліпшують збуджувальну і/або інгібуючу дію застосовуваного електричного поля на нейронну мережу(-і) в одній і/або іншій ділянці мозку, звужуючи просторове роділення (осередковість) і підвищуючи глибину проникнення електричного поля, при застосуванні стандартних методик електростимуляції.

Більше того, наночастинок або агрегати наночастинок відповідно до даного винаходу дозволяють знизити застосовуваний струм, напругу, ширину і/або частоту імпульсів, тим самим знижуючи відомому потенційну токсичність, пов'язану із прикладенням/індукованим електричним струмом.

КОРОТКИЙ ОПИС

У даному документі із забезпеченням вигідного ефекту вперше описана наночастинок або агрегат наночастинок для застосування в/для збільшення, підвищення або поліпшення діяльності/здатностей мозку або для профілактики, або лікування/для застосування в профілактиці або лікуванні патологічного стресу, або принаймні одного його симптому в суб'єкта, де наночастинок або агрегат наночастинок піддають впливу електричного поля/стимулу. Матеріал наночастинок або агрегат наночастинок зазвичай вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

Також описане застосування наночастинок або агрегату наночастинок для одержання композиції для збільшення, підвищення або поліпшення діяльності/здатностей мозку або для профілактики або лікування патологічного стресу або принаймні одного його симптому, у суб'єкта, що потребує такого.

Також тут описані композиції для застосування в/для поліпшення діяльності мозку або для профілактики, або лікування/для застосування у профілактиці або лікуванні автологічного стресу або принаймні одного його симптому, у суб'єкта, що зазнає впливу електричного поля/стимула, де композиція містить або складається з наночастинок і/або агрегатів наночастинок, і фармацевтично прийнятної підкладки, та де матеріал наночастинок або агрегат наночастинок зазвичай вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

Далі описаний набір, що містить принаймні дві окремі наночастинок і/або агрегат наночастинок, де кожна наночастинок або агрегат наночастинок складається з окремих матеріалів, зазвичай вибраних з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100, і його застосування зазвичай для поліпшення діяльності мозку або в способі поліпшення діяльності мозку, або в профілактиці, або лікуванні патологічного стресу або принаймні одного його симптому в пацієнта.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС

За оцінками, нервова система людини складається із приблизно 80-120 мільярдів нервових клітин (Herculano-Houzel S. *Frontier in Human Neuroscience* (2009), 3(31): 1-11: The human brain in numbers: a linearly scaled-up primate brain). Визначальною характеристикою нейрона (або нервової клітини) є здатність передавати електричні сигнали у формі потенціалів дії.

Нейрон/нервова клітина становить елементарний вузол мозку. Структура нейрона/нервової клітини складається з: "соми" або "тіла клітини", яка містить ядро і може бути пролонгована дендритами, "нейриту", який передає електричний сигнал, і закінчення нейриту, яке складається із синаптичних закінчень.

Нервові клітини можуть взаємодіяти одна з одною у високо структурованій манері, що утворює нейронні мережі. Нейрон взаємодіє через синаптичні зв'язки. Усередині нейрона наноланцюги становлять основний біохімічний механізм для медіювання ключових нейронних властивостей, таких як навчання і пам'ять, і генез нейронної ритмічності.

Мікроланцюг може бути утворений всього лише декількома нейронами і може виконувати складні задачі, такі як медіювати рефлекс, обробляти сенсорну інформацію, ініціювати рух і медіювати навчання і пам'ять. Макроланцюг є більш складною мережею, яка складається з множини вбудованих мікроланцюгів. Макроланцюги медіюють вищі функції мозку, такі як розпізнавання об'єкта і пізнання. Отже, декілька рівнів мереж займають нервову систему.

Збудливість нейронної мережі

Нейрони посиляють повідомлення електрохімічно (тобто хімічні речовини/іони викликають електричний сигнал). Важливими іонами в нервовій системі є натрій і калій, кальцій і хлорид. Коли нейрон не посиляє сигнал, він перебуває "у стані спокою". Якщо нейрон перебуває в стані спокою, внутрішня частина нейрона є негативною щодо зовнішньої частини. Хоча концентрації різних іонів намагаються балансувати на обох сторонах мембрани, вони не можуть, тому що клітинна мембрана пропускає тільки деякі іони через канали (іонні канали). На додаток до цих селективних іонних каналів, існує помпа, яка використовує енергію для переміщення трьох іонів натрію з нейрона на кожні два іони калію, які вона вводить. Нарешті, коли всі ці сили збалансовані, і різниця в напрузі між внутрішньою і зовнішньою частиною нейрона виміряна, мембранний потенціал спокою (також "потенціал спокою") нейрона становить близько -70 мВ. Це означає, що внутрішня частина нейрона на 70 мВ менша ніж зовнішня частина. У стані спокою зовні нейрона перебуває відносно більше іонів натрію, а усередині цього нейрона більше іонів калію. Потенціал дії (також ідентифікований як "сплеск" або "імпульс") виникає, коли нейрон посиляє інформацію вниз до нейриту, від тіла клітини. Це означає, що деяка подія (стимул) змушує потенціал спокою рухатися в напрямку 0 мВ. Коли деполяризація досягає близько -55 мВ, нейрон запускає потенціал дії. Якщо деполяризація не досягає цього критичного граничного рівня, потенціал дії не запускається (механізм вмикання/вимикання). Також, якщо граничний рівень досягається, завжди виникає потенціал дії фіксованої амплітуди. Тому або деполяризація не досягає порога, або створюється повний потенціал дії.

Більша мінливість виявлена у швидкості поширення потенціалів дії. Фактично, швидкість поширення потенціалів дії в нервах може варіюватися від 100 метрів у секунду до менше десяти метрів у секунду. У той час як константа часу є показником того, як швидко мембрана буде реагувати на подразник у часі, константа простору (також константа довжини) є показником того, наскільки добре електричний потенціал буде поширюватися уздовж нейриту залежно від відстані.

Міжнейрональний зв'язок усередині і між нейронними мережами

Існує три типи мереж міжнейрональних зв'язків, які використовуються для вивчення зв'язку усередині та в межах головного мозку. Структурні міжнейрональні зв'язки ґрунтуються на визначенні трактографії, яка фізично з'єднує ділянки головного мозку. Це анатомічні мережні карти, які вказують можливі шляхи, за якими можуть пересуватися сигнали в головному мозку. Функціональні міжнейрональні зв'язки ідентифікують активність в ділянках головного мозку, яка має схожу частоту, фазу і/або амплітуду корельованої активності. Ефективні міжнейрональні зв'язки застосовують інформацію функціональних міжнейрональних зв'язків і це ще один крок уперед у визначенні прямого або непрямого впливу, який одна нейронна система може виявляти на іншу, зокрема, напрямок динамічного потоку інформації в мозку (Bowyer et al., Neuropsychiatric Electrophysiology, 2016, 2(1), 1-12: Coherence a measure of the brain networks: past and present.).

Синхронізована активність у нейронній мережі може бути визначена магнітоенцефалограмою (МЕГ), електроенцефалограмою (ЕЕГ), функціональною магнітно-резонансною томографією (ФМРТ) або позитронно-емісійною томографією (ПЕТ), потім зображенням з аналізом мережі міжнейрональних зв'язків. МЕГ (магнітоенцефалограма) або ЕЕГ (електроенцефалограма) переважні, тому що вони мають високе часове розділення для розділення динамічного потоку інформації. Аналіз міжнейрональних зв'язків мозку проводять, щоб намітити комунікаційні мережі, необхідні для роботи мозку. Окремі ділянки мозку спеціалізуються на обробці певних видів інформації. Методи візуалізації показали, що ці ділянки зв'язані і взаємодіють із іншими спеціалізованими ділянками в межах мереж у мозку. "Когеренція" (Bowyer et al.) є математичним методом, який кількісно визначає частоту і амплітуду синхронності (стан знаходження в синхронності або синхронізований стан) нейрональних структур коливань функціонування мозку. Визначення синхронної активації нейронів може бути використане для визначення благополуччя або цілісності функціональних міжнейрональних зв'язків у мозку людини. Накладення карт функціональних міжнейрональних зв'язків на зображення структурних міжнейрональних зв'язків і використання напрямку потоку інформації, отриманого з ефективних міжнейрональних зв'язків, забезпечує всеосяжне розуміння того, як функціонує мозок.

Неушкоджений мозок експресують складні схеми синхронної активності, асоційовані з різними 'статусами' організму, від повільного дельта ритму (0,5-4 Гц), через тета (4-8 Гц), альфа (8-12 Гц), бета (15-30 Гц) і гамма (30-70 Гц) коливання. Цікаво, що дисоційована культура кіркових структур пропонує зручну систему для вивчення правил, які визначають виникнення, генерацію і поширення мережних розрядів (сплесків) і спалахів (скупчень сплесків) у популяціях щільно зв'язаних нейронів. Мережна активність може бути записана для тривалих періодів часу не інвазивним методом і з кінцевим часовим розділенням, використовуючи багатоелектродні матриці. 2-вимірна дисоційована культура може застосовуватися як життєздатна система тестування для вивчення правил, які керують утворенням і збереженням мережної активності в мозку, дозволяючи тестувати гіпотезу, яка не може бути вирішена в неушкодженому мозку (Cohen E. et al., Brain Research, 2008, 1235, 21-30: Determinants of spontaneous activity in networks of cultured hippocampus).

Розумові здатності людини або її діяльність мозку, такі як інтелект, особливо складні. Розуміння цих здатностей у механістичному плані може сприяти їх вдосконалюванню. Дослідження з використанням енцефалограм і подійно-обумовлених потенціалів показують, що швидкість і надійність нейронної передачі пов'язані з більш високими показниками, як правило, з більш високим інтелектом. Ранні дослідження нейровізуалізації з використанням ПЕТ показали, що інтелект негативно корелює з метаболізмом церебральної глюкози під час розумової діяльності, що призводить до формулювання гіпотези "нейронної ефективності". Згідно із цією гіпотезою, більш розумні люди витрачають менше нейронних ресурсів для виконання даного рівня. Інтелект у сенсі міркувань і нових здатностей до вирішення проблем постійно пов'язаний із цілісністю, структурою і функцією латеральної префронтальної кори і, можливо, з функцією інших ділянок. Невирішені питання про нейронні основи інтелекту включають, крім іншого, взаємозв'язок між психометричним інтелектом (тобто інтелектом, вимірюваним у тесті IQ-типу, що зазвичай оцінює точність реакції (а не швидкість)) і (i) функціональним міжнейрональним зв'язком між компонентами робочих мереж пам'яті, як показано в дослідженнях на основі електроенцефалограм, і (ii) нейронною пластичністю (тобто терміном, використовуваним для позначення тих процесів, які пов'язані із серйозними змінами нервової системи у відповідь на досвід, і які перестають діяти в зрілому віці в людини). Повідомлялося, що розвиток нейронних зв'язків узгоджується з розвитком інтелекту (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.).

Комунікація між нейронами дійсно важлива для вищих функцій мозку, таких як сприйняття, пам'ять і рух (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). Хоча передбачається, що формування і розвиток зв'язків мають вирішальне значення в процесі навчання, їх збереження, очевидно, необхідне для пам'яті. Синаптична пластичність довгий час була залучена в когнітивні процеси, такі як навчання і пам'ять. Синаптична пластичність на мережному рівні забезпечує розподілений механізм для перетворення і зберігання тимчасової інформації в просторово-розподілених схемах синаптичних модифікацій. Щоразу, коли щось довідаються, мережа розвиває новий міжнейрональний зв'язок і включає нові вивчені факти. Відомо, що електростимуляція може ефективно викликати зміни в синхронізації мережі і, зокрема, впливати на властивості розриву мережі, збільшуючи швидкість і розряду і розриву. Більше того, після такого роду спонтанної пов'язаної з активністю стимуляції найсильніші з'єднання реагують подальшим збільшенням своєї сили в порівнянні з іншими з'єднаннями в мережі. Цей механізм, імовірно, зберігає з'єднання, які більш інформативні і мають відношення до загальної мережної активності. Chiappalone et al. (European Journal of Neuroscience, 2008, 28, 221-237: Network plasticity in cultured cortical assemblies) виявив, що застосування found that застосування високочастотної тетанічної стимуляції з або без низької частоти 0,2 Гц у фазі або ізочастотній коактивації 1 Гц здатне викликати синаптичне потенціювання глобальної мережі. Відгук мережі явно збільшується завдяки синаптичному потенціюванню, що можна зрозуміти, подивившись на збільшення кількості ефективних з'єднань мережі (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) застосував до кортикальних структур у зрілому стані розвитку імпульси двофазного струму із частотою 0,2-0,33 Гц для дослідження можливих модифікацій функціональних міжнейрональних зв'язків мережі і отже, синаптичної пластичності. Вони виявили, що електростимуляція впливає на кількість функціональних зв'язків (з'єднань), а також на середню магнітуду змін.

Ефективні з'єднання між нейронами можуть бути визначені, наприклад, мультиелектродними матрицями на дисоційованих нейронних культурах, як презентовано в Chiappalone et al. (European Journal of Neuroscience, 2008, 28, 221-237: Network plasticity in cultured cortical assemblies) або методами одержання зображень, добре відомими фахівцями в даній галузі техніки, такими як методи візуалізації на основі електронів, які подають структурну інформацію про синаптичні міжнейрональні зв'язки, зазвичай, електронна мікроскопія (ЕМ), наприклад, серійна блокова електронна мікроскопія (СБЕМ), сканувальна електронна мікроскопія із серійним зрізом (СЕМСС), ЕМ з автоматичною передачею (ЕМАП) тощо; методи візуалізації на основі фотона, наприклад, "брейнбой" (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), "матрична томографія" (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), відтворення GFP через синаптичних партнерів ("GRASP"), зокрема, GRASP ссавців "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.), транссинаптичне відстеження вірусом сказу (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), флуоресцентна селективна площинна мікроскопія висвітлення (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.), переважно в комбінації зі способом очищення, таким як "CLARITY" (Chung K, et al., 2013, Nature, 497 (7449), 332-337: Structural and molecular interrogation of intact biological systems.); а також ортогенетичні методи, такі як методи одержання зображень канал-родопсину і/або двофотонного мікроскопічного кальцію, які дозволяють відображати просторовий розподіл синаптичних зв'язків разом з показниками синаптичної сили (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 також визначення активних синапсів, збуджених різними введеннями (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); або будь-які комбінації цих різних методів (Yook C. et al., Cellular and Molecular Life Sciences, 2013, 70, 4747-4757: Mapping mammalian synaptic connectivity).

Зміни мережної активності викликають зміни густини підодиноць рецептора глутамату 2-аміно-3-(5-метил-3-оксо-1,2-оксазол-4-іл)пропанової кислоти (АМПК), які присутні на шипах, знайдених у збудливих синапсах. Такі пертурбації можуть впливати на ймовірність потенціалу дії і результуючу швидкість частоти пульсації в мережі нейронів. Ці типи синаптичних модуляцій спостерігалися у зв'язку з вивченням та пам'яттю і, як вважається, лежать в основі нейронного субстрату пам'яті, відомого як довгочасна потенціація (ДП). Niedringhaus M. et al. (PLOS ONE, 2013, 8(3), e57144: Synaptic Potentiation Facilitates Memory-like Attractor: Dynamics in Cultured In Vitro Hippocampal Networks) описує тимчасову мережну активність, яка виникає при введенні фармакологічних агентів форсколіну (50 мМ) і роліпраму (100 нМ) у культивовані нейрони гіпокампу для того, щоб викликати хімічну довгочасну потенціацію (ДП). Автори спостерігали значне збільшення активності сплесків і розривів після хімічної ДП. Більше того, після хімічної ДП, сплески, очевидно, групуються в щільно організовані епізоди вкороченої тривалості і більш високої частоти. Відбувається рівномірне зниження коефіцієнта варіацій між-сплескових інтервалів на всіх електродах, що пройшли хімічну обробку ДП. Таким чином, їх результати показали, що молекулярні модуляції в синапсі, стимульовані підвищеним потенціюванням, призводять до перебудови сплесків, оскільки вони утворюють щільно ущільнені епізоди постійної активності. Сплески важливі під час розвитку, оскільки вони сприяють нормальному функціонуванню в розвитку нейронів, що, у свою чергу, допомагає створювати життєздатні зв'язки. Ці об'єднані результати демонструють, що синаптична потенціація відповідальна за

реструктуризацію профілю сплеску. Ці реструктуровані сплески полегшують зберігання інформації в мережі.

Структура кори головного мозку

Існує два великі класи кортикальних нейронів: "гальмові нейрони" або "інтернейрони", які створюють тільки близькі локальні зв'язки; і "збудливі нейрони" або "проекційні нейрони", або "пірамідальні нейрони", які поширюють нейрити на віддалені внутрішньокіркові, підкіркові і субцеребральні мішені. "Інгібуючі нейрони" або "інтернейрони" складають меншість (20 %) кіркових нейронів; більшість складають "пірамідальні нейрони" (Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex). Проекційні нейрони є глутаматергічними нейронами, які передають інформацію між різними ділянками неокортексу і в інші ділянки мозку (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). Проекційні нейрони або пірамідальні нейрони названі за їх випнутим апікальним дендритом, який зазвичай спрямований на поверхню, забезпечуючи їм пірамідальну морфологію. Зазвичай нейрон "належить" шару, у якому перебуває його клітинне тіло (або "сома"), навіть якщо апікальний і базальний дендрити між ними охоплюють ще декілька шарів, уловлюючи більш широкий діапазон сигналів (Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex).

Сіра речовина кори головного мозку являє собою звивистий, шаруватий шар тканини, товщиною 2-3 міліметра в людини, але із площею поверхні в декілька сотень квадратних сантиметрів (Shipp S., Current Biology, 2007, 17(12), R443-449: Structure and function of the cerebral cortex). У корі головного мозку розпізнають шість основних шарів:

- шар I, молекулярний шар, що містить мало розсіяних нейронів, і що складається в основному з розширень апікальних дендритних пучків пірамідальних нейронів і горизонтально орієнтованих нейритів, а також гліальних клітин;
- шар II, зовнішній гранулярний шар, що містить переважно дрібні і середні пірамідальні нейрони та численні зірчасті нейрони;
- шар III, зовнішній пірамідальний шар, що містить переважно дрібні і середні пірамідальні нейрони, а також не пірамідальні нейрони з вертикально орієнтованими внутрішньокортикальними нейритами;
- шар IV, внутрішній зернистий шар, що містить різні типи зірчастих і пірамідальних нейронів;
- Шар V, внутрішній пірамідальний шар, що містить великі пірамідальні нейрони, які є джерелом нейритів, що залишають кору і стікають до підкіркових структур (таких як базальні ганглії). У первинній моторній корі лобової частки, шар V містить клітини, нейрити яких проходять через внутрішню капсулу, стовбур головного мозку і спинний мозок, утворюючи кортикоспинальний тракт, який є основним шляхом для довільного моторного контролю; і
- шар VI, поліморфний або мультиформний шар, що містить мало великих пірамідальних нейронів і багато дрібних веретеноподібних пірамідальних і мультиформних нейронів; шар VI посиляє еферентні волокна до таламуса, установлюючи дуже точне взаємне з'єднання між корою і таламусом.

Ці шари по-різному розвиваються в різних ділянках кори головного мозку, наприклад, пірамідальні шари більш розвинені в рухових центрах, а гранулярні в сенсорних центрах кори головного мозку.

Модуляція збудливості кори при електростимуляції

Транскраніальна мікрополяризація (ТКМП) є методом електростимуляції кори головного мозку, що включає електроди (один анод і один катод), розміщені на поверхні черепа. Як така, ТКМП викликає модулювання збудливості кори і пластичні зміни в нейронній мережі(ах).

Струм, застосовуваний у ТКМП, модулює спонтанну нейронну активність залежно від полярності. Поверхнева анодна стимуляція зазвичай викликає потік вхідного струму в корі, який очікується завдяки соматичній деполяризації пірамідальних кортикальних нейронів і апікальній дендритній гіперполяризації, а поверхнева катодна стимуляція зазвичай викликає потік вихідного струму в корі і, як очікується, призводить до соматичної гіперполяризації пірамідальних кортикальних нейронів і апікальної дендритної деполяризації Kadosh RC, "The stimulated brain", 2014, edited by Elsevier) (див. фігуру 1).

Нейронна поляризованість також може залежати від напрямку застосовуваного електричного поля щодо осі 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). Існують різні конфігурації електродів, що дають різні типи стимуляції і струму (див. фігуру 2). Ділянка мозку, стимульована анодом, складає ділянку, де нейронна активність збуджена/посилена, а ділянка мозку, стимульована катодом, складає ділянку, де нейронна активність гальмується (Kadosh RC, "The stimulated brain", 2014, edited by Elsevier) (див. фігуру 3).

У даному документі переважно вперше описані наночастинка або агрегат наночастинок для застосування в/для посилення, збільшення або поліпшення діяльності/здатностей мозку для профілактики або лікування/для застосування в профілактиці, або лікуванні патологічного стресу, або принаймні одного його симптому, де наночастинка або агрегат наночастинок зазнає електричного поля/стимулу. Матеріал наночастинок або агрегат наночастинок зазвичай вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

У типовому аспекті, описана наночастинка або агрегат наночастинок призначений для застосування в/для поліпшення фізичних властивостей або в/для поліпшення когнітивних властивостей, тобто навчання, пам'яті, чуттєвого сприйняття, уваги і/або прийняття рішень у суб'єкта.

Наприклад, більшість досліджень за останнє сторіччя показали, що жоден з учасників не може вирішити проблему з дев'ятьма точками, яка полягає в з'єднанні дев'яти точок чотирма прямими лініями, намальованими без відриву ручки від паперу або повторного виконання лінії. Chi et al. показали, що застосування ТКМП (прямий струм 1,6 мА з певною конфігурацією електродів) протягом 10 хв дозволяє більш 40 % учасників (з 22 учасників) вирішити проблему (Chi et al., Neuroscience Letters, 2012, 515, 121-124: Brain stimulation enables the solution of an inherently difficult problem). Інший експеримент із іншим типом проблеми, "арифметикою сірників" (учасників попросили виправити неправильне арифметичне твердження, представлене римськими цифрами, побудованими із сірників, шляхом переміщення одного сірника з однієї позиції в іншу без додавання або видалення сірника) продемонстрував те ж полегшення вирішення проблем завдяки електростимуляції ТКМП (Chi et al., PLOS One, 2011, 6(2), e16655: Facilitate insight by non-invasive brain stimulation).

Поліпшення рухової функції, яке потім призводить до поліпшення фізичних здатностей, є однією із захоплюючих галузей застосування поліпшення функціональності мозку. Стимулюючи певні ділянки рухової ділянки кори головного мозку, у людей було продемонстроване поліпшення дрібної моторики, а також модулювання загальних рухових властивостей, таких як стомлюваність і чутливість. Vines et al. і Cuypers et al. показали поліпшені моторні навички і моторне навчання, використовуючи ТКМП і завдання торкання пальцем. У дослідженні Vines учасники повинні зіставити номери на екрані із клавішами на клавіатурі, де кожна клавіша призначена певному пальцю. Учасники, що одержали двопівкульову стимуляцію, були швидшими і точнішими при виконанні завдання, давали більше відповідей і більшу частку правильних відповідей у порівнянні з учасниками, що одержували однопівкульову або симульовану стимуляцію (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. застосовували подібний протокол для тестування того, як підвищена стимуляція (1,5 мА до 1 мА) впливає на засвоєння рухових навичок. Тут дослідники повторили відкриття Vines et al. показуючи, що підвищена стимуляція дає подальше поліпшення швидкості і точності при виконанні завдання (Cuypers et al., PLOS One, 2013, 8(6), e67344: Is motor learning mediated by tDCS intensity?).

Таким чином, електрична стимуляція описується в даному документі як засіб для поліпшення, збільшення або розширення фізичних характеристик/здатностей, зокрема, при спортивних тренуваннях (Banissy et al., Frontiers in Human Neuroscience, 2013, 7(129), 1-3: Transcranial direct current stimulation in sports training: potential approaches).

ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЯ

У контексті винаходу електричне поле переважно застосовують через транскраніальну електростимуляцію або транскраніальну магнітну стимуляцію.

Якщо необхідно досягти кори головного мозку, електростимуляція виконується на поверхні (глибина проникнення електричного поля зазвичай дорівнює або нижча 2 см під поверхню шкіри; при застосуванні певної методики, певні котушки транскраніальної магнітної стимуляції, електричне поле може досягти глибини 5 см). Методики, що забезпечують таке електричне поле, включають зазвичай транскраніальну магнітну стимуляцію (ТМС), періодичну транскраніальну магнітну стимуляцію (пТМС), транскраніальну мікрополяризацію (ТКМП), транскраніальну мікрополяризацію з високим розділенням (ВР-ТКМП), транскраніальну електростимуляцію (ТЕС), транскраніальну стимуляцію змінним струмом (тСПТ), транскраніальну стимуляцію імпульсним струмом (тІСІ) і транскраніальну стимуляцію безладними шумами (тСБШ; змінний струм разом з безладною амплітудою і частотою). Найбільш широко застосовуваними в клінічних дослідженнях і переважними в контексті винаходу є ТМС і ТКМП.

Транскраніальна магнітна стимуляція (ТМС)

Транскраніальна магнітна стимуляція (ТМС) є неінвазивною методикою, яку застосовують або досліджують у множині дослідницьких і терапевтичних галузей застосування, включаючи вивчення нормальних і патологічних функцій мозку і лікування нервових розладів, і яку застосовують у контексті винаходу. У ТМС застосовують короткі інтенсивні імпульси електричного струму, подавані на котушку, поміщену на голову суб'єкта для створення електричного поля в мозку через електромагнітну індукцію. Індуковане електричне поле модулює нейронні трансмембранні потенціали і тим самим, нейронну активність. Місце розташування активації в мозку перебуває приблизно в ділянці, де індуковане електричне поле є максимальним; це місце розташування, у свою чергу, залежить від геометрії і розміщення стимулюючої котушки. Інтерес представляють дві просторові особливості електричного поля: глибина проникнення і осередковість, які залежать від геометрії котушки і легко визначаються фахівцем.

Транскраніальна мікрополяризація (ТКМП)

Транскраніальна мікрополяризація (ТКМП) є неінвазивною методикою, застосовуваною в контексті винаходу, де стимуляцію мозку проводять завдяки прямому струму, що призводить до зміни кіркової збудливості. У ТКМП застосовують низькоінтенсивний (0,5-2 мА) постійний струм, який застосовують безпосередньо до голови через два електроди (анод/катод) зазвичай 20-35 см². Один електрод (посилальний електрод) може бути поміщений на чоло (вище надбрівної дуги) та інший (активний електрод) може бути поміщений на протилежну півкулю, зазвичай над рухову ділянку кори головного мозку (M1) або дорзолатеральну префронтальну кору, залежно від дизайну. Тривалість стимуляції найбільше часто варіюється від 20 до 40 хвилин. Частина струму проникає в мозок, утворюючи пікове електричне поле приблизно 0,3 В/м на 1 мА застосовуваний. Стійке електричне поле, створюване під час ТКМП, модифікує трансмембранний нейронний потенціал і може впливати на рівень збудливості і чутливості до синаптичного входу, і модулює частоту пульсації окремих нейронів. Підвищена збудливість виникає при анодній стимуляції, а знижена збудливість зазвичай виникає при катодній стимуляції.

НАНОЧАСТИНКИ

Описана наночастинка або агрегат наночастинок для застосування відповідно до даного винаходу в/для поліпшення діяльності мозку або для профілактики або лікування/для застосування у профілактиці або лікуванні патологічного стресу або принаймні одного його симптому, у суб'єкта, якщо зазначена наночастинка або агрегат наночастинок зазнає впливу електричного поля, де матеріал наночастинок або агрегат наночастинок зазвичай вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вище 200, і ізоляційного матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

Композиція наночастинок

Наночастинка, одержувана із провідного матеріалу

Наночастинка, отримана із провідного матеріалу є органічною наночастинкою або неорганічною наночастинкою.

Неорганічну наночастинку, отриману із провідного матеріалу, зазвичай одержують із металевим елементом, що має значення стандартного відновного потенціалу E° , що дорівнює або вище близько 0,01, зазвичай вимірюване при 25°C і тиску 1 атм. щодо стандартного водневого електрода (див. таблицю 2 "реакції відновлення, що мають значення E° більш позитивне, ніж значення стандартного водневого електрода", 8-25, Handbook of chemistry and physics; David R. Lide; 88th Edition), більш переважно, що дорівнює або вище близько 0,1, 0,2, 0,4 або 0,5. Звичайні металеві елементи, застосовувані для одержання наночастинок, можуть бути вибрані з Ti, Po, Ag, Pd, Ir, Pt, Au і їх суміші. Переважно, металевий елемент, застосовуваний як провідний матеріал для одержання наночастинок, вибирають із Ir, Pd, Pt, Au і їх суміші.

Органічні наночастинки, отримані із провідного матеріалу, зазвичай одержують із органічним матеріалом, що мають сусідні sp² гібридизовані вуглецеві центри в структурі (тобто вуглецевий подвійний зв'язок або ароматичні цикли, що містять гетероатоми, зазвичай N або S, в ароматичному циклі або поза ароматичним циклом). Переважні органічні матеріали вибирають із поліаніліну, поліпіролу, поліацетилену, політіофену, полікарбазолу, поліпірену, полі(3,4-етилендіокситіофен) і/або полі(3,4-етилендіокситіофен)полістиролсульфонату.

Наночастинки, отримані з напівпровідного матеріалу

Наночастинка, отримана з напівпровідного матеріалу, зазвичай є неорганічною наночастинкою.

Неорганічні наночастинки зазвичай одержують з напівпровідним матеріалом, що представляє порівняно невелику енергію забороненої зони (E_g) між валентною зоною і зоною провідності. Зазвичай напівпровідний матеріал має заборонену зону E_g нижче 3,0 еВ, зазвичай вимірювану при кімнатній температурі (25°C). У конкретному аспекті матеріал є внутрішнім напівпровідним матеріалом або зовнішнім напівпровідним матеріалом, як додатково описано нижче.

Внутрішні напівпровідні матеріали зазвичай складаються з елемента групи IVA періодичної таблиці Менделєєва, такого як кремній (Si) або германій (Ge), у змішаній композиції елементів із груп III і V періодичної таблиці Менделєєва, таких як AlSb, AlN, GaP, GaN, InP, InN, тощо, або в змішаній композиції елементів із груп II і VI періодичної таблиці Менделєєва, таких як ZnSe, ZnTe, CdTe тощо.

Зовнішні напівпровідні матеріали зазвичай містять або складаються із внутрішнього напівпровідника, отриманого з високим ступенем хімічної чистоти, де внутрішній напівпровідний матеріал містить легуючу добавку. У конкретному аспекті, якщо зовнішній напівпровідний матеріал наночастинки або агрегату наночастинок складається з елемента із групи IVA періодичної таблиці Менделєєва, його легують носієм заряду, вибраним з Al, B, Ga, In і P. Такі зовнішні напівпровідні матеріали можуть бути або о-типу, у якому домінують носії негативного заряду або п-типу, у якому домінують носії позитивного заряду. Типовий зовнішній напівпровідний матеріал п-типу складається із кремнію (Si) або германію (Ge), легованого зарядженим носієм, вибраним з алюмінію (Al), бору (B), галію (Ga) і індію (In); типовий зовнішній напівпровідний матеріал п-типу складається із кремнію (Si) або германію (Ge), зазвичай легованого фосфором (P).

Наночастинки, отримані з ізолюючого матеріалу, що має високу відносну діелектричну константу (відносну діелектричну проникність), тобто що дорівнює або вище 200

Наночастинки, отримані з або що складаються з ізолюючого матеріалу, що має заборонену зону E_g , що дорівнює або вище 3,0 еВ, зазвичай вимірювану при кімнатній температурі (25°C) і високій відносній діелектричній константі ϵ_{ijk} (також називаній відносна діелектрична проникність), зазвичай одержують із матеріалом, що має відносну діелектричну константу ϵ_{ijk} , що дорівнює або вище 200, яку зазвичай вимірюють при температурі від 20°C до 30°C і від 10^2 Гц аж до інфрачервоної частоти (див., наприклад, таблицю 12-45 "Діелектрична проникність (діелектрична константа) неорганічної твердої речовини"; 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).

Такі наночастинки зазвичай одержують із діелектричним матеріалом, який є змішаним оксидом металу, переважно вибраним з BaTiO₃, KTaNbO₃, KTaO₃, SrTiO₃, BaSrTiO₃ тощо.

Наночастинки, отримані з ізолюючого матеріалу, що має низьку відносну діелектричну константу (відносну діелектричну проникність), тобто що дорівнює або нижче 100

Наночастинки, отримані з або що складаються з ізолюючого матеріалу, що має низьку діелектричну константу, зазвичай одержують із матеріалу, що має заборонену зону E_g , що дорівнює або вище 3,0 еВ, зазвичай вимірювану при кімнатній температурі (25°C) і відносній діелектричній константі ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижче 100, яку зазвичай вимірюють при температурі від 20°C до 30°C і від 10^2 Гц аж до інфрачервоної частоти (див., наприклад, таблицю 12-45 "Діелектрична проникність (діелектрична константа) неорганічної твердої речовини"; 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).

Такі наночастинки зазвичай одержують із діелектричним матеріалом, який вибирають із оксиду металу, змішаного оксиду металу, металевий елемент якого належить до періоду 3, 5 або 6 періодичної таблиці Менделєєва або лантаноїду, і вуглецевого матеріалу. Діелектричний матеріал переважно вибирають із Al₂O₃, LaAlO₃, La₂O₃, CeO₂, SiO₂, SnO₂, Ta₂O₅, ZrO₂, HfO₂, Y₂O₃ і алмазного вуглецю.

Форма наночастинки або агрегату наночастинок

Оскільки форма частинки або агрегату може впливати на її "біосумісність", переважна частинка або агрегат, що має досить однорідну форму. З фармакокінетичних причин, переважні наночастинки або агрегати, які є по суті сферичними, круглими або яйцеподібними за формою. Така форма також сприяє взаємодії наночастинки або агрегату із клітиною або поглинанню клітинами. Особливо переважна сферична або кругла форма.

Форму наночастинки або агрегату наночастинок зазвичай оцінюють із застосуванням просвічуючої електронної мікроскопії (ПЕМ).

Величина або розмір наночастинки або агрегату наночастинок

У дусі винаходу, терміни "наночастинка" або "агрегат наночастинок" належать до продукту, зокрема, до синтетичного продукту з розміром у нанометровому діапазоні, зазвичай від 1 нм до 500 нм.

5 Термін "агрегат наночастинок" або "наночастинковий агрегат" належить до сукупності наночастинок, сильно, зазвичай ковалентно зв'язаних одна з одною.

Просвічуюча електронна мікроскопія (ПЕМ) може застосовуватися для вимірювання розміру наночастинок або агрегату наночастинок. Також динамічне світлорозсіювання (ДСР) може застосовуватися для вимірювання гідродинамічного діаметра наночастинок або агрегату наночастинок у розчині. Ці два методи також можуть застосовуватися один за одним для порівняння вимірювань розміру і підтвердження зазначеного розміру. Переважним методом є ДСР (Ref. International Standard ISO22412 Particle Size Analysis-Dynamic Light Scattering, International Organisation for Standardisation (ISO) 2008), тоді як середній гідродинамічний діаметр наночастинок або агрегату наночастинок у розчині даний за інтенсивністю.

15 Як правило, найбільша величина або розмір є діаметром наночастинок круглої або сферичної форми або найбільшою довжиною наночастинок яйцеподібної або овальної форми.

Найбільша величина наночастинок або агрегату, визначеного тут, зазвичай становить від близько 2 нм до близько 250 нм, переважно, від близько 4 або 10 нм до близько 100 нм або близько 200 нм, навіть більш переважно від близько 10 нм до близько 150 нм.

Біосумісне покриття наночастинок або агрегатів наночастинок

20 У переважному варіанті наночастинка або агрегат наночастинок, застосовуваний у контексті даного винаходу для одержання композиції, що заявляється, може бути покритий біосумісним матеріалом, вибраним з агента, що володіє властивістю малопомітності. Агентом, що володіє властивістю малопомітності, може бути агент, що представляє просторову групу. Така група може бути вибрана, наприклад, з поліакрилату; поліакриламід (полі(N-ізопропілакриламід)); полікарбамід; біополімеру; полісахариду, такого як декстран або ксилан; і колагену. В іншому переважному варіанті наночастинок або агрегати наночастинок можуть бути покриті біосумісним матеріалом, вибраним з агента, що дозволяє взаємодію з біологічною метою. Такий агент зазвичай може надавати позитивний або негативний заряд поверхні наночастинок або агрегату наночастинок. Агентом, що формує позитивний заряд поверхні наночастинок або агрегати наночастинок, може бути амінопропілтриетоксисилан або полілізін. Агентом, що формує негативний заряд поверхні наночастинок або агрегати наночастинок, може бути, наприклад, фосфат (наприклад, поліфосфат, метафосфат, пірофосфат тощо), карбоксилат (наприклад, цитрат або дикарбонова кислота, зокрема, бурштинова кислота) або сульфат.

35 У переважному варіанті наночастинка або агрегат наночастинок, використовуваний в контексті даного винаходу, представляють гідрофільний нейтральний поверхневий заряд або покриті біосумісним матеріалом (тобто покриваючим агентом), вибраним з гідрофільного агента, що надає наночастинці нейтральний поверхневий заряд. Дійсно, коли наночастинки відповідно до даного винаходу вводять суб'єктові, наночастинки, що представляють гідрофільний нейтральний поверхневий заряд, або наночастинки, покриті біосумісним агентом, вибраним з гідрофільного агента, що надає нейтральний поверхневий заряд наночастинкам, особливо підходять для оптимізації застосування описаних тут наночастинок при впливі електричного стимулу/поля.

45 Гідрофільним агентом, що надає нейтральний поверхневий заряд наночастинкам або агрегатам наночастинок, може бути агент, що демонструє функціональну групу, вибрану зі спирту (R-OH), альдегіду (R-COH), кетону (R-CO-R), складного ефіру (R-COOR), кислоти (R-COOH), тіолу (R-SH), сахариду (глюкози, фруктози, рибози, наприклад), ангідриду (RCOOOC-R) і піролу. Гідрофільним агентом, що надає нейтральний поверхневий заряд наночастинкам або агрегатам наночастинок, може бути мономер, димер, олігомер, полімер або співполімер. Якщо агентом є олігомер, він може бути олігосахаридом, таким як циклодекстрин. Якщо агентом є полімер, він може бути складним полієфіром (таким як полі(молочна кислота) або полігідроксіалканова кислота), простим полієфіром, поліетиленоксидом, поліетиленгліколем, полівініловим спиртом, полікапролактоном, полівінілпіролідом, полісахаридом, таким як целюлоза, поліпіролом тощо.

55 Крім того, гідрофільним агентом, що надає нейтральний поверхневий заряд наночастинкам або агрегатам наночастинок, може бути агент, що демонструє певні групи (R-), здатні взаємодіяти з поверхнею наночастинок або агрегату наночастинок. R зазвичай вибирають із тіолу, силану, карбонової і фосфатної групи.

Коли наночастинка або агрегат наночастинок є провідником або напівпровідником і металевою наночастинкою, R переважно є тіолом, тіоефіром, дитіолом або карбоксильною

групою. Переважно гідрофільний нейтральний агент вибирають із тіоглюкози, 2-меркаптоетанолу, 1-тіоглицерину, тіогліколю і гідроксимасляної кислоти.

Коли наночастинка або агрегат наночастинок є ізолятором і наночастинкою з оксиду або змішаного оксиду, R переважно є силаном або фосфатною групою. Переважно гідрофільним нейтральним покриваючим агентом є гідроксиметилтриетоксисилан, сполука фруктози 6-фосфату або глюкози 6-фосфату.

Гідрофільним агентом, що надає нейтральний поверхневий заряд наночастинці або агрегату наночастинок, може бути цвітерійна сполука, така як амінокислота, пептид, поліпептид, вітамін або фосфоліпід.

Поверхневий заряд наночастинки або агрегату наночастинок зазвичай визначають, як добре відомо фахівцям в даній галузі техніки, вимірюваннями зета потенціалу, зазвичай у воді для наночастинок із концентрацією від 0,2 до 10 г/л, для рН від 6 до 8, і зазвичай додаванням електролітів у концентраціях у воді від 0,001 до 0,2 М, наприклад, 0,01 М або 0,15 М. У зазначених вище визначених умовах, поверхневий заряд наночастинки або агрегату наночастинок зазвичай становить від -10 мВ до +10 мВ (відповідає нейтральному поверхневому заряду), від -20 мВ до +20 мВ або від -35 мВ до +35 мВ.

Повне біосумісне покриття наночастинки або агрегату може бути переважним у контексті даного винаходу, для того, щоб уникнути будь-якого електричного заряду на поверхні наночастинок, коли наночастинки представляють гідрофільний нейтральний поверхневий заряд. "Повне покриття" має на увазі присутність дуже високої густини/компактності біосумісних молекул, здатних створювати принаймні повний моношар на поверхні частинки.

Біосумісне покриття забезпечує, зокрема, стабільність наночастинок у рідині, такій як фізіологічна рідина (кров, плазма, сироватка тощо) або будь-якому ізотонічному середовищі або фізіологічному середовищі, необхідному для фармацевтичного введення.

Стабільність може бути підтверджена кількісним визначенням сухого екстракту з використанням сушильної печі і вимірюванням на суспензії наночастинок до і після фільтрації, зазвичай на фільтрі 0,45 мкм.

Переважно покриття зберігає цілісність частинки *in vivo*, забезпечує або поліпшує її біосумісність і полегшує її необов'язкову функціоналізацію (наприклад, зі спейсерними молекулами, біосумісними полімерами, цільовими агентами, білками тощо).

Біосумісна наночастинка або агрегат наночастинок відповідно до даного винаходу не повинні ні розчиняти і вивільняти токсичні речовини після введення *in vivo* (тобто при фізіологічному рН), ні показувати окисно-відновну поведінку під час відсутності електростимуляції.

Інший описаний тут конкретний об'єкт належить до композиції, зокрема, фармацевтичної композиції, що містить наночастинки і/або агрегати наночастинок, такі, як визначені вище, переважно разом з фармацевтично прийнятним носієм або наповнювачем.

Зокрема, тут описана композиція для застосування в/для поліпшення діяльності мозку або для профілактики, або лікування/для застосування у профілактиці або лікуванні аутологічного стресу або принаймні одного його симптому, у суб'єкта, що зазнає впливу електричного поля/стимула, де композиція містить або складається з наночастинок і/або агрегатів наночастинок і фармацевтично прийнятної підкладки, і де матеріал наночастинок або агрегат наночастинок зазвичай вибирають з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

У переважному аспекті композиція містить або складається з принаймні двох різних наночастинок і/або агрегатів наночастинок, де кожна наночастинка або агрегат наночастинок складається з окремого матеріалу, зазвичай вибраного з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100.

Композиція може бути у формі твердої речовини, рідини (частинки в суспензії), аерозолі, гелю, пасти і подібних. Переважні композиції перебувають у рідкій або гелевій формі. Особливо переважна композиція перебуває у рідкій формі.

Застосовуваною фармацевтично прийнятною підкладкою або носієм може бути будь-яка класична підкладка для фахівця в даній галузі техніки, наприклад, фізіологічний розчин, ізотонічний, стерильний, буферний розчин, розчин не водного носія і подібні.

Композиція також може містити стабілізатори, підсолоджувачі, поверхнево-активні речовини, полімери і подібні.

Вона може бути складена, наприклад, у вигляді ампули, аерозолу, пляшки, таблетки, капсули, із застосуванням методик одержання фармацевтичного складу, відомим фахівцям в даній галузі техніки.

5 Наночастинки або агрегат наночастинок відповідно до даного винаходу може вводиться суб'єктові із застосуванням різних можливих шляхів, таких як внутрішньочерепний, внутрішньовенний (ВВ), через дихальні шляхи (інгаляцією), інтратекальний, інтраокулярний або пероральний шлях (через рот), переважно із застосуванням внутрішньочерепного або інтратекального.

10 Якщо необхідно, можуть проводитися повторні ін'єкції або введення наночастинок або агрегатів.

Описані тут наночастинки, агрегати наночастинок і композиції, що містять такі наночастинки або агрегати наночастинок, призначені для застосування в суб'єкта, зазвичай для застосування у тварини, переважно в ссавця, ще більш переважно в людини незалежно від її віку або статі.

15 Типові кількості наночастинок або агрегатів наночастинок, що вводяться в кору головного мозку, гіпокамп або мигдалину, становить від 10^5 до 10^{15} , переважно від 10^7 до 10^{14} , більш переважно від 10^9 до 10^{12} . Також типові кількості наночастинок або агрегатів наночастинок, що вводяться в кору головного мозку, гіпокамп або мигдалину суб'єкта, становлять від 10^2 до 10^{12} наночастинок або агрегатів наночастинок на см^3 .

20 У контексті винаходу вплив на наночастинки або агрегати наночастинок електричного поля/стимулу еквівалентний впливу на суб'єкта, якому вводять наночастинки або агрегати наночастинок, електричного поля/стимулу.

Також описаний спосіб поліпшення діяльності мозку в суб'єкта і спосіб лікування патологічного стресу або принаймні одного його симптому в суб'єкта, де кожний спосіб включає стадію введення будь-яких з описаних тут наночастинок або агрегатів наночастинок суб'єктові і стадію впливу на такого суб'єкта електричного поля/стимулу.

25 Інший описаний тут об'єкт належить до набору, що містить принаймні дві різні наночастинки і/або агрегати наночастинок, описаних тут, де кожна наночастинка або агрегат наночастинок складається з різного матеріалу, зазвичай вибраного з провідного матеріалу, напівпровідного матеріалу, ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або вища 200, і ізолюючого матеріалу з діелектричною константою ϵ_{ijk} , що дорівнює або нижча 100, як описано тут.

В конкретному варіанті набір містить, в окремих контейнерах, окремі наночастинки і/або агрегати наночастинок, описані тут (які призначені для контакту, зазвичай змішування, або *in situ*, тобто на цільовому місці, або *in vitro* або *ex vivo* до поміщення суміші на цільове місце).

35 Також тут описане застосування, *in vivo*, *in vitro* або *ex vivo*, такого набору в способі, описаному тут, поліпшення діяльності/здатностей мозку в суб'єкта, зазвичай для поліпшення ефективних зв'язків у нейронній мережі і, таким чином, можливості пам'яті нейронної мережі в суб'єкта, або в способі профілактики або лікування патологічного стресу або принаймні одного його симптому, у суб'єкта, що потребує такого. Також описаний набір, описаний тут, для застосування в профілактиці або лікуванні патологічного стресу або принаймні одного його симптому у суб'єкта.

Даний винахід спрямований, зокрема, на підвищення діяльності мозку завдяки використанню наночастинок або агрегатів наночастинок, що зазнають впливу електричного стимулу/поля.

45 Наночастинки або агрегати наночастинок відповідно до даного винаходу, коли вони зазнають впливу електричного стимулу/поля, призначені для використання в/для підвищення діяльності/здатностей мозку, або для профілактики або лікування/для використання в профілактиці або лікуванні патологічного стресу або принаймні одного його симптому в суб'єкта, що потребує такого лікування, за рахунок локального збільшення інгібуючого ефекту, викликаного катодною стимуляцією через застосування одного типу наночастинок "NP1" (тобто ізолюючих наночастинок) і/або локального збільшення збуджувальної дії, викликані анодною стимуляцією за допомогою використання наночастинок іншого типу "NP2" (тобто провідникових або напівпровідникових наночастинок) [див. фігуру 4-а): місцеве підвищення інгібуючої дії наночастинками "NP1", 4-b) місцеве підвищення збуджувальної дії наночастинками "NP2", 4-c): місцеве підвищення інгібуючої дії наночастинками "NP1" і місцеве підвищення збуджувальної дії наночастинками "NP2"].

50 У конкретному аспекті наночастинка або агрегат наночастинок, описані тут, призначені для застосування в способі в/або поліпшення фізичних властивостей і в/для поліпшення навчання, запам'ятовування, чуттєвого сприйняття, уваги і/або прийняття рішень суб'єктом, що потребує такого лікування.

У гризунів, зазвичай в мишей, надійні докази психометричного інтелекту можуть бути отримані при тестуванні батарей, що включають різні задачі. Ці тести зазвичай включають навчальні задачі, такі як розпізнавання запахів або просторова навігація. Навчальний тест пов'язаний із сенсорною, руховою або мотиваційною вимогою, що пред'являються до тварини.

Наприклад, для оцінки мислення в мишей може застосовуватися тест на основі концепції "швидкого картирування" For instance, to assess reasoning in mice, a TECt based on the concept of "швидкого схоплювання, запам'ятовування і засвоєння" (Carey S, et al., Proceedings of the Stanford Child Language Conference., 1978, 15, 17-29: Acquiring a single new word), для оцінки задачі на увагу в мишей може застосовуватися "Струп-тест у мишей", і для оцінки ефективності

робочої пам'яті або об'єму робочої пам'яті в мишей може застосовуватися аналіз "радіального восьмирукавого лабіринту" (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 може застосовуватися для оцінки можливостей пам'яті в людини. IQ тести, такі як матриця Равена або шкала інтелекту дорослих Векслера, добре відомі фахівцям в даній галузі техніки і зазвичай застосовуються для оцінки можливостей робочої пам'яті в людини. Словесно-колірний тест Струпа на інтерференцію (Stroop JR, Journal of Experimental Psychology, 1935, 18, 643-652: Studies of interference in serial verbal reactions) також може застосовуватися в людини для прогнозування загального інтелекту (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 іншому конкретному аспекті наночастинка або агрегат наночастинок, описані в даному документі, призначені для профілактики або лікування/для використання в профілактиці або лікуванні суб'єкта шляхом посилення нервових/нейронних зв'язків, функціонального міжнейронального зв'язку і/або синаптичної пластичності в головному мозку суб'єкта, що потребує такого лікування.

У типовому аспекті описані тут наночастинка або агрегат наночастинок призначені для профілактики або лікування/для використання в профілактиці або лікуванні суб'єкта, що страждає зміненою функціональною активністю мозку.

В іншому конкретному аспекті описані тут наночастинка або агрегат наночастинок призначені для профілактики або лікування/для використання в профілактиці або лікуванні суб'єкта, що страждає на патологічний стрес або принаймні на один з його симптомів, зокрема, від хронічного стресу. Усі живі організми прагнуть до динамічної рівноваги, яка називається гомеостазом. Цій рівновазі загрожують певні фізичні і психологічні події. Інтерфейс між сенсорною інформацією, що надходить, і процесом оцінки формується лімбічними структурами мозку, які включають гіпокамп, мигдалину і префронтальну кору. Різні ситуації можуть викликати стрес, наприклад, новизна, непевність, розчарування, конфлікт, страх, біль тощо. Постійний вплив несприятливого навколишнього середовища, включаючи подразники, такі як шум, забруднення навколишнього середовища і міжособистісні конфлікти, також може викликати стрес.

Патологічний стрес, що виникає в результаті таких кумулятивних і/або повторюваних ситуацій, змінює структуру (морфологію) і/або зв'язки, і/або функціональні властивості клітин мозку. Як наслідок, патологічний стрес чинить серйозний вплив на здоров'я і обмежує якість життя людини.

Неконтрольований стрес може мати серйозні несприятливі наслідки і викликати симптоми, включаючи погіршення здатності до навчання і пам'яті. При помірному рівні стресу, деякі нейрохімічні системи (наприклад, катехоламіни, глюкокортикоїди) можуть впливати на навчання. У міру збільшення рівня стресу (за тривалістю і/або інтенсивністю) у гіпокампі спостерігаються деякі тимчасові і постійні зміни, включаючи модифікації в синаптичній пластичності, клітинні морфологічні зміни, пригнічення нейрогенезу в дорослих і/або деструкцію, або атрофію нейронів (ці зміни описані тут як симптоми патологічного стресу). Ці зв'язані зі стресом зміни в мозку впливають на процеси навчання і пам'яті. Дійсно, гіпокамп, мигдалина і префронтальна кора піддаються стрес-індукованому структурному ремоделюванню, яке змінює поведінкові і фізіологічні реакції. Хронічний стрес викликає атрофію нейронів у гіпокампі і префронтальній корі, а також в ділянках мозку, залучених в пам'ять, селективну увагу і виконавчу функцію, і викликає гіпертрофію нейронів у мигдалині, ділянці мозку, залученій в страх і агресивність. Здатність вчитися, запам'ятовувати і приймати рішення може бути поставлена під погрозу і, як правило, знижується внаслідок хронічного стресу, і може супроводжуватися підвищеною агресивністю.

Великі спостереження електрофізіологічних досліджень *in vitro* і *in vivo* послідовно показують, що стрес і гормони стресу погіршують довгострокове потенціювання (ДП).

Існує багато фармацевтичних засобів, таких як снодійні ліки, транквілізатори та бета-блокатори, які протидіють деяким проблемам, пов'язаним з патологічним знаходженням у стані стресу. Аналогічним чином, ліки, які зменшують окисний стрес або запалення, блокують синтез або абсорбцію холестерину і лікують інсулінову резистентність або хронічний біль, можуть допомогти впоратися з метаболічними і неврологічними наслідками знаходження в "стані патологічного стресу". Усі ці лікарські засоби коштовні певною мірою, але, на жаль, у кожного є свої побічні ефекти і обмеження (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). Описані тут наночастинки тепер можуть переважно використовуватися для лікування суб'єкта, що страждає від такого патологічного стресу, зокрема, від хронічного стресу, зазвичай суб'єкта, що має мозок, у якому були виявлені зв'язані зі стресом зміни, як описано тут вище.

Термін "лікування" належить до терапевтичного лікування або заходів, здатним запобігти, послабити абовилікувати патологічний стрес або його симптом, як описано тут вище, зокрема, хронічний стрес. Таке лікування призначене для ссавця суб'єкта, переважно людини, що потребує такого. Вважається, що такими є суб'єкти, уже ідентифіковані (діагностовані) як страждаючі на патологічний стрес, як описано тут, або суб'єкти, які вважаються "підданими ризику розвитку" такого патологічного стресу, для яких лікування є превентивним або профілактичним лікуванням. Конкретними суб'єктами, що страждають на патологічний стрес, є суб'єкти, яким призначають препарат, вибраний зі снодійного, транквілізатора і бета-блокатора.

Наступні приклади і відповідні їм фігури ілюструють винахід, не обмежуючи його об'єм.

КРЕСЛЕННЯ

Фігура 1. Модулювання кіркової збудливості через ТКМП: а) схема пірамідального кіркового нейрона; б) анодна стимуляція; с) катодна стимуляція.

Фігура 2. Різна установка електродів для транскраніальної мікрополяризації (ТКМП).

Фігура 3. Інгібуюча і збудлива дія електростимуляції (ТКМП).

Фігура 4. а): місцеве збільшення інгібуючої дії з наночастинками "NP1", б) місцеве збільшення інгібуючої дії з наночастинками "NP2", с): місцеве збільшення збудливої дії з наночастинками "NP1" і місцеве збільшення збудливої дії з наночастинками "NP2"; де NP2 є провідником або напівпровідником і NP1 є ізолятором.

Фігура 5. Експериментальна схема культур нейронів, що перебувають під впливом низькочастотної стимуляції (НЧС) на стадії i) і стадії ii), з або без проміжної стадії i') високочастотної стимуляції (ВЧС).

Культури лобової частки миші готують із ембріонів мишей NMRI на 15/16 день і культивують на 48-лункових МЕА протягом 26 днів (період культивування; нативна фаза). Культури обробляють протягом 2 днів суспензіями наночастинок (групи "Наночастинки") або водою (група "контроль"). Через 2 дня інкубування активність записують протягом 2 годин (запис "Пре-стим"). Запис продовжують у дві окремі стадії (стадії i) і ii)) або три окремі стадії (стадії i), i') і ii)) у наступному порядку: фаза низькочастотної стимуляції (НЧС-1) протягом 30 хвилин (стадія i)), необов'язково, фаза проміжної тетатичної стимуляції (високочастотна, ВЧС) протягом 5 хвилин (стадія i')) і фаза низькочастотної стимуляції (НЧС-2) протягом 90 хвилин (стадія ii)). Після нативної фази два активні електроди ідентифікують на лунку і вибирають для стимуляції. Один з них стимулюють НЧС на стадіях i) і ii), і обидва електроди стимулюють ВЧС на стадії i') при проведенні. Запис проводять під час стадії i) (значення одержують із 60 секунд згрупованих даних, отриманих з 30 хвилинного періоду) і стадії ii) (значення одержують із 60 секунд згрупованих даних, отриманих з 30 хвилинного періоду після 60 хвилинної НЧС).

Фігура 6. Схема двох спрощених спалахів, що окреслюють деякі параметри, які можуть бути отримані із запису електричної активності. Показують параметри, що описують загальну активність (сплеск, спалах, інтервал між спалахами (IMC) і період спалаху) і структуру спалаху (тривалість спалаху, плато спалаху, амплітуду спалаху, інтервал спалаху між сплесками (ICMC) і площа спалаху). Стандартні відхилення (СВ) цих параметрів є показниками регулярності загальної активності і структури спалаху, відповідно. Коефіцієнт варіацій у часі (КВчас) відображає часове регулювання схеми активності кожної одиниці. КВчас розраховують відношенням стандартного відхилення параметра до середнього. Коефіцієнт варіацій у мережі (КВмережа) відображає синхронізацію нейронів у мережі. КВмережа розраховують співвідношенням стандартного відхилення параметра до середнього по всій мережі. Більші значення КВмережа означають широкий спектр варіацій активності в мережі, означаючи меншу синхронізацію.

Фігура 7. Функціональні дії групи "Наночастинки" (наночастинки із прикладу 3) під впливом високочастотної стимуляції (ВЧС) у порівнянні із групами "Контроль" (без наночастинок/з або без високочастотної стимуляції) на активність мережі лобової частки. Результати показують ВЧС-специфічне потенціювання на клітинному рівні в присутності наночастинок у порівнянні із групами "Контроль".

Фігура 8. Функціональні дії групи "Наночастинки" (наночастинки із прикладу 1) під впливом високочастотної стимуляції (ВЧС) у порівнянні із групами "Контроль" (з або без високочастотної стимуляції) на активність мережі лобової частки. Результати показують ВЧС-специфічне потенціювання на клітинному рівні в присутності наночастинок у порівнянні із групами "Контроль".

ПРИКЛАДИ

Імітація

Імітація може застосовуватися для оцінки дії на нейронну мережу(і) наночастинок під впливом електричного стимулу (електричного поля).

In vitro дослідження нейронів

На нейронному рівні, методика фіксації потенціалу дуже корисна для визначення потенціалів дії, тому що вона дозволяє одночасне пряме вимірювання і контроль мембранного потенціалу нейрона.

Цю методику застосовують для оцінки дії наночастинок на одному нейроні.

In vitro дослідження мережі нейронів

Мультиелектродні матриці (МЕМ) дозволяють стимулювати і записувати велику кількість нейронів (нейронну мережу). Дисоційовані нейронні культури на МЕМ є спрощеною моделлю, у якій активність мережі може управлятися послідовностями електростимуляції через множинну електродів матриці. Ця методика дуже корисна для оцінки фізіологічно релевантних питань у мережі і клітинних рівнях, що дає краще розуміння функції і дисфункції мозку.

Дисоційовані нейронні культури, сполучені з МЕМ дійсно широко застосовуються для кращого розуміння складності мозкових мереж. Крім того, застосування дисоційованих нейронних скупчень допомагає маніпулювати і контролювати мережні міжнейрональні зв'язки. Застосування дисоційованих нейронних культур сполучених з МЕМ дозволяє створювати експерименти, у яких нейрони можуть бути позаклітинно стимульовані за допомогою електричних імпульсів, що доставляються через однакові електроди пристрою. Таким чином, стає розумним досліджувати те, як нейронна динаміка, що з'явилася, може бути модульована електростимуляцією, і, отже, чи модифіковані базові функціональні міжнейрональні зв'язки чи ні (Poli D. et al, *Frontiers in Neural Circuits*, 2015, 9 (article 57), 1-14: Functional connectivity in in vitro neuronal assemblies).

Система МЕМ дозволяє неінвазивні довгочасні одночасні позаклітинні записи з множини місць у нейронній мережі в режимі реального часу, підвищуючи просторове розділення і, тим самим, забезпечуючи надійне вимірювання мережної активності. Одночасний збір даних потенціалу дії і потенціалу поля протягом тривалих періодів часу дозволяє відслідковувати мережні функції, які виникають при взаємодії всіх клітинних механізмів, відповідальних за створення просторово-часового шаблону (Johnstone A. F. M. et al., *Neurotoxicology* (2010), 31: 331-350, *Microelectrode arrays: a physiologically based neurotoxicity testing platform for the 21st century*). У порівнянні з фіксацією потенціалу і іншими одноелектродними методиками запису, МЕМ вимірює реакцію всієї мережі, інтегруючи глобальну інформацію на взаємодії всіх рецепторів, синапсів і нейронних типів, які присутні в мережі (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*). Як такі, записи МЕМ застосовуються для розуміння нейронної комунікації, кодування інформації, поширення і обробки в нейронних 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*). Технологія МЕМ являє собою складний фенотиповий спосіб одночасний багатопараметричний аналіз для дослідження активних клітинних культур, які дуже чутливі до нейрогенезу, а також до нейрогенеративних і нейродегенеративних аспектів. Більше того, відомо, що нейронні мережі, вирощені на МЕМ, здатні реагувати на нейроактивні або нейротоксичні з'єднання в приблизно однакових інтервалах концентрації, які змінюють функції цілих нервових систем ссавців (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).

Цю методику застосовують для оцінки дії наночастинок на нейронну мережу.

In vivo дослідження мережі нейронів

5 Розглядається придатна модель на тваринах для оцінки впливу на нейронні мережі тварин наночастинок відповідно до даного винаходу при впливі електричного стимулу.

Наприклад, лабіринти використовуються для вивчення просторового навчання і пам'яті в щурів. Дослідження з використанням лабіринту допомагають розкрити загальні принципи навчання, які можна застосовувати до багатьох видів, включаючи людей. Сьогодні лабіринти 10 зазвичай використовуються для визначення того, чи впливають різні методи лікування або умови на навчання і пам'ять у щурів.

ПРИКЛАД 1. Наночастинки, отримані із провідним матеріалом: синтез золотих наночастинок, покритих біосумісним покриттям, що має нейтральний заряд поверхні

15 Золоті наночастинки синтезують відновленням хлориду золота (HAuCl_4) захисною речовиною (цитратом натрію) (протокол адаптують із G. Frens Nature Physical Science 241 (1973) 21). У типовому експерименті розчин HAuCl_4 нагрівають до кипіння. Потім додають розчин цитрату натрію. Отриманий розчин витримують при кипінні протягом додаткових 5 хвилин.

20 Проводять 0,22 мкм фільтрацію (фільтрувальна мембрана: полі(ефірсульфен) (ПЕС)) суспензії наночастинок, і концентрацію золота в суспензії визначають УФ-видимою мікроскопією при 530 нм.

25 Покриті поверхні проводять із застосуванням α -метокси- ω -меркаптополі(етиленгліколю) 20 кДа ("тіол-ПЕГ20кДа"). Достатню кількість "тіол-ПЕГ20кДа" додають до суспензії наночастинок для досягнення принаймні половини покриття моношаром ($2,5$ молекули/нм²) на поверхні золотої наночастинки. рН доводять від 7 до 7,2, і суспензію наночастинок перемішують протягом ночі.

30 Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 118 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,13.

35 Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 мМ при рН 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при рН 7 дорівнює -1 мВ.

ПРИКЛАД 2. Наночастинки, отримані із провідним матеріалом: синтез золотих наночастинок, покритих біосумісним покриттям, що мають негативний заряд на поверхні

Золоті наночастинки одержують, як описано в прикладі 1 (та ж золота неорганічна серцевина).

40 Проводять 0,22 мкм фільтрацію на ПЕС мембранному фільтрі, і концентрацію золота в суспензії визначають УФ-видимою мікроскопією при 530 нм.

45 Біосумісне покриття поверхні проводять із застосуванням мезо-2,3-димеркаптобурштинової кислоти (ДМБК). Достатню кількість ДМБК додають до суспензії наночастинок для досягнення принаймні половини покриття моношаром ($2,5$ молекули/нм²) на поверхні золотої наночастинки. рН доводять від 7 до 7,2, і суспензію наночастинок перемішують протягом ночі.

50 Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 76 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,46.

Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 мМ при рН 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при рН 7 дорівнює -23 мВ.

55 ПРИКЛАД 3. Наночастинки, отримані з ізолюючим матеріалом, що мають низьку відносну діелектричну константу, що дорівнює або нижча 100: синтез наночастинок із оксиду циркону, покритих біосумісним покриттям, що мають нейтральний заряд поверхні

Наночастинки оксиду цирконію (ZrO_2) синтезують осадженням хлориду цирконію (ZrCl_4) з гідроксидом тетраметиламонію (ТМАОН) при лужному рН. Отриману суспензію переносять в

автоклав і нагрівають при температурі вище 110°C. Після охолодження суспензію промивають дейонізованою водою і підкисляють.

Проводять 0,22 мкм фільтрацію на ПЕС мембранному фільтрі і концентрацію наночастинок (ZrO_2) визначають сушінням водного розчину в порошок і зважуванням отриманої маси.

5 Біосумісне покриття проводять із застосуванням силан-полі(етилен)гліколю 2 кДа ("Si-ПЕГ 2 кДа"). Достатню кількість "Si-ПЕГ 2 кДа" додають до суспензії наночастинок для досягнення принаймні половини покриття моношаром (2,5 молекули/нм²) на поверхні. Суспензію наночастинок перемішують протягом ночі і потім рН доводять до 7.

10 Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 55 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,1.

15 Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 мМ при рН 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при рН 7 дорівнює -1 мВ.

20 ПРИКЛАД 4. Наночастинки, отримані з ізолюючим матеріалом, що мають низьку відносну діелектричну константу, що дорівнює або нижча 100: синтез наночастинок із оксиду циркону, покритих біосумісним покриттям, що мають негативний заряд поверхні

Наночастинки оксиду цирконію одержують, як описано в прикладі 3 (та ж неорганічна серцевина).

Проводять 0,22 мкм фільтрацію на ПЕС мембранному фільтрі і концентрацію наночастинок (ZrO_2) визначають сушінням водного розчину в порошок і зважуванням отриманої маси.

25 Функціоналізацію поверхні проводять із застосуванням гексаметафосфату натрію. Достатню масу додають до суспензії наночастинок для досягнення принаймні половини покриття моношаром (2,5 молекули/нм²) на поверхні. Суспензію наночастинок перемішують протягом ночі і потім рН доводять до 7.

30 Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 70 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,11.

35 Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 мМ при рН 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при рН 7 дорівнює -33 мВ.

ПРИКЛАД 5. Наночастинки, отримані з напівпровідним матеріалом: кремнієві наночастинки, покриті біосумісним покриттям, що мають негативний заряд поверхні

40 Кремнієві (Si) наночастинки (порошок) одержують від US Research Nanomaterials Inc. Їх диспергують у воді при 30 г/л при опроміненні ультразвуком (з датчиком).

Проводять 0,22 мкм фільтрацію на ПЕС мембранному фільтрі і концентрацію (Si) наночастинок визначають сушінням суспензії в порошок і зважуванням отриманої маси.

45 Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 164 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,16.

50 Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 мМ при рН 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при рН 7 дорівнює -19 мВ.

55 ПРИКЛАД 6. Наночастинки, отримані з ізолюючим матеріалом, що мають високу відносну діелектричну константу, що дорівнює або вища 200: наночастинки титанату барію, покриті біосумісним покриттям, що мають негативний заряд поверхні

Суспензію наночастинок титанату барію ($BaTiO_3$) (20 % мас. у воді) одержують від US Research Materials Inc. (US3835).

60 Функціоналізацію поверхні проводять із застосуванням силан-полі(етилен)гліколю 10 кДа ("Si-ПЕГ 10 кДа"). Коротко, "Si-ПЕГ 10 кДа" спочатку розчиняють у розчині етанол/вода (1/3 об./об.) і додають до суспензії $BaTiO_3$ (20 % мас. у воді) з одержанням повного покриття

моношару на поверхні наночастинок. Суспензію обробляють ультразвуком і потім перемішують протягом ночі. Потім проводять 0,22 мкм фільтрацію (фільтрувальна мембрана: полі(ефірсульфон)), стадію промивання для видалення "Si-ПЕГ 10 кДа" полімерів, що не прореагували.

Гідродинамічний діаметр (параметр в інтенсивності) визначають динамічним світлорозсіюванням (ДСР) із застосуванням Nano-Zetasizer (Malvern) при куті світлорозсіювання 173° з випусканням лазера при 633 нм, розведенням суспензії наночастинок у воді (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Отриманий таким чином гідродинамічний діаметр біосумісних золотих наночастинок у суспензії дорівнює 164 нм, при коефіцієнті полідисперсності (дисперсія популяції наночастинок у розмірі) 0,16.

Зета потенціал визначають вимірюванням електрофоретичної рухомості наночастинок (Nano-Zetasizer, Malvern) розведенням суспензії наночастинок у розчині NaCl при 1 mM при pH 7 (кінцева концентрація: 0,1 г/л). Зета потенціал при pH 7 дорівнює -11 мВ.

ПРИКЛАД 7. Дослідження довгочасної пластичності із застосуванням електростимулювання нейронів лобової частки з MEM і функціональна оцінка наночастинок відповідно до даного винаходу

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Нейрочипи на мікроелектродній матриці

48-коміркові нейрочипи на мікроелектродній матриці купують в Axion Biosystems Inc. Ці чипи мають 16 пасивних електродів на комірку. Поверхню покривають протягом 1 години поліетиленіміном (PEI, 50 % у боратному буфері), промивають і сушать на повітрі.

Первинна клітинна культура, умови обробки і електростимуляції

Тканину лобової частки збирають в ембріона миші chr:NMRI на 15/16 день (Charles River). Мишей умертвляють цервікальною дислокацією. Тканину дисоціюють ферментативним перетравленням (133,3 одиниць Куниця/мл ДНази; 10 одиниць/мл папаїну) і механічно розтирають, підраховують, контролюють життєздатність і поміщають в 20 мкл краплі DMEM, що містить ламінін (10 мкг/мл), 10 % фетальної бичачої сироватки і 10 % кінської сироватки, на MEM. Культури на MEM інкубують при 37°C в 10 % CO₂ атмосфері до готовності до застосування. Спів-культури, що розвинулись, обробляють інгібіторами мітозу 5-фтор-2'-деоксирідином (25 мкМ) і уридином (63 мкМ) на 5 день після висівання для запобігання подальшої гліальної проліферації. Культуральне середовище знову наповнюють два рази на тиждень DMEM, що містить 10 % кінську сироватку.

Лобову частку культивують протягом 26 днів (період культивування, також називаний "нативна фаза"). Кількість активних комірок підраховують, і додають суспензії наночастинок (800 мкМ) (групи "Наночастинки") або воду (група "контроль") в активні комірки. Через 2 дня (48 годин) інкубування активність записують протягом 2 годин (запис "Пред-стим"), потім проводять 30-хвилинну низькочастотну стимуляцію (НЧС-1) (стадія i)) і 90- хвилинну низькочастотну стимуляцію (НЧС-2) (стадія ii)), з або без проміжної стадії i') (після стадії i) і до стадії ii)) тетанічної стимуляції (висока частота, ВЧС) протягом 5 хвилин. Після нативної фази два активні електроди ідентифікують на комірку і вибирають для стимулювання. Один з них стимулюють НЧС на стадіях i) і ii), і обидва електроди стимулюють ВЧС на стадії i'). Запис проводять під час стадії i) (значення одержують із 60 секунд згрупованих даних, отриманих з 30 хвилинного періоду) і стадії ii) (значення одержують із 60 секунд згрупованих даних, отриманих з 30 хвилинного періоду після 60 хвилинної НЧС) (див. фігуру 5).

Параметри електростимуляції

Низькочастотна стимуляція (стадії i) і ii)): 30 хвилин або 90 хвилин

Стимуляція одного електрода на комірку в 48-комірковій MEM

Мінімальна тривалості стимуляції: 100 мкс

Штучна елімінація 2 мс після імпульсу

1 імпульс (двофазний) при +/- 500 мВ (частота 0,2 Гц)

Високочастотна стимуляція (стадія i')): 5 хвилин

Стимуляція одного електрода на гніздо в 48-комірковій MEM

Мінімальна тривалості стимуляції: 100 мкс

Minimum stimulation duration: 100 μs

Штучна елімінація 2 мс після імпульсу

11 імпульсів (двофазних) при +/- 500 мВ (частота 20 Гц) і період послідовності імпульсів (частота 0,2 Гц)

Багатоканальний запис і багатопараметричний аналіз даних

Для запису застосовують багатоканальну систему запису MAESTRO від Axion Biosystems (USA). Для позаклітинного запису 48-коміркові MEM поміщають у станцію запису MAESTRO і

витримують при 37°C. Записи роблять в DMEM/10 % інактивованої теплою кінської сироватки. рН підтримують на рівні 7,4 при безперервному потоці або фільтрованого, зволоженого повітря з 10 % CO₂.

Кожну одиницю, що представляє активність, що походить з одного нейрона, записують на одному електроді. Одиниці розділяють на початку запису. Для кожної одиниці потенціали дії (тобто сплески) записують як послідовність сплесків, які збирають у так звані "спалахи". Спалахи кількісно описують через аналіз прямої послідовності сплесків із застосуванням програм Spike Wrangler і NPWaveX (обидві від NeuroProof GmbH, Rostock, Germany). Спалахи визначають початком і кінцем коротких сплесків (див. фігуру 6).

За допомогою багатопараметричного аналізу високого вмісту шаблонів активності мережі виділяють 204 параметри, що описують активність послідовності сплесків. Ці параметри дозволяють точно описати зміни активності в наступних чотирьох категоріях: загальна активність, структура спалаху, режим коливань і синхронність.

- Зміни в "параметрах загальної активності" описують дію частоти випускання потенціалу дії (швидкість сплеску), швидкість спалаху і період спалаху як час між спалахами.

- "параметри структури спалаху" визначають не тільки внутрішню структуру сплесків у високочастотній фазі сплесків ("спалаху"), наприклад, частоту сплесків у спалахах, швидкість сплесків у спалахах і густину спалаху сплесків, але також загальну структуру спалаху, таку як тривалість, площа і плато.

- "параметри коливань" кількісно оцінюють регулярність виникнення або структуру спалахів, яку розраховують через коефіцієнти варіації параметрів первинної активності, що описують варіабельність параметрів (загальна активність, структура спалаху) в експериментальних епізодах (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). Більш високі значення показують менш регулярну структуру спалаху або менш регулярну загальну активність (наприклад, пульсацію, випускання спалахів).

Як показник синхронності послідовностей сплесків, "параметри КВмережа" відображають "синхронізацію" серед нейронів у мережі (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). КВмережа є коефіцієнтом варіації за всією мережею. Більші значення КВмережа означають широкий спектр варіацій в активності в мережі, означаючи меншу синхронізацію. (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).

Функціональні ефекти, викликані високочастотною стимуляцією (ВЧС) на нейронній мережі, у присутності або відсутності наночастинок відповідно до даного винаходу, оцінюють через описані вище параметри (також узагальнені для деяких з них у таблиці 1 нижче).

Таблиця 1:

Параметри, що описують активність, із багатопараметричного аналізу даних у наступних категоріях: загальна активність і режим коливань.

Загальна активність	Швидкість сплеску	Кількість сплесків у секунду, середнє для всіх записаних послідовностей сплесків
	Швидкість спалаху	Кількість спалахів у хвилину, середнє для всіх записаних одиниць
	Швидкість події	Кількість подій у хвилину. Подія визначена як синхронна активність спалаху принаймні 50 % від усіх одиниць у мережі в період часу 300 мс
Режим коливань	Тривалість спалаху СВ	Стандартне відхилення тривалості спалаху, що відображає варіабельність тривалості спалаху в експериментальних епізодах.
	Площа спалаху СВ	Стандартне відхилення площі під кривою після інтегрування спалаху, визначеного тривалістю спалаху, кількість сплесків у спалахах, частота сплесків у спалахах. Параметр описує варіабельність площі спалаху в експериментальних епізодах. Більш високі значення показують менш регулярну структуру спалаху.
	Кількість спалахів сплесків СВ	Стандартне відхилення кількості сплесків у спалахах описує зміну кількості сплесків однієї одиниці в спалаху в експериментальних епізодах. Більш низькі значення є показником нижчого ступеня зміни в кількості сплесків у спалаху, тобто більш регулярну структуру спалаху.
	Швидкість спалаху СВ	Стандартне відхилення кількості спалахів у хвилину, що показує варіабельність здатності до спалахів одиниць в експериментальних епізодах.

Функціональна дія на активність мережі під час НЧС-2 (стадія ii), тобто після стадії ВЧС i'), у присутності тестованих наночастинок або за їх відсутності, була нормалізована до активності "НЧС-1", тобто активності, вимірюваної під час низькочастотної стимуляції на стадії i). Значення одержують із 60 секундних згрупованих даних, отриманих в 30 хвилинний період. Результати (значення параметрів) виражені як середнє $\pm$ СВС незалежних мереж. Для кожної групи "Наночастинок" або групи "Контроль" принаймні 8 активних комірок ("активна" означає гніздо з достатньою кількістю електродів, що вимірюють електричну активність) були включені в аналіз. Розподіли абсолютних параметрів тестували на нормальність і статистичну значимість між групами оцінювали однопараметричним ANOVA.

Фігури 7 і 8 представляють деякі типові параметри (загальна активність і режим коливань), що характеризують функціональну дію, викликану ВЧС для груп "Контроль" і груп "Наночастинок" (наночастинок із прикладу 1 і із прикладу 3). Підвищення цієї дії в порівнянні з дією в групах "Контроль" у присутності наночастинок на клітинному рівні показує ефект, що потенціює, завдяки цим наночастинок.

Фігура 7 показує, що попередня обробка нейронної мережі наночастинок із прикладу 3 і обробка високочастотною електростимуляцією (ВЧС) підвищує функціональну дію в порівнянні із групами "Контроль". Цікаво, що поліпшені функціональної дії спостерігається для параметрів, що належать до категорії загальної активності (зазвичай "швидкість спалаху" і "швидкість події"), і вони досягають рівнів вище тих, які спостерігають у ВЧС-стимульованій групі "Контроль". Це показує специфічне до наночастинок ВЧС-медійоване потенціювання, яке може бути корельоване з поліпшенням ефективних зв'язків у мережі і, отже, з поліпшенням можливості пам'яті нейронної мережі.

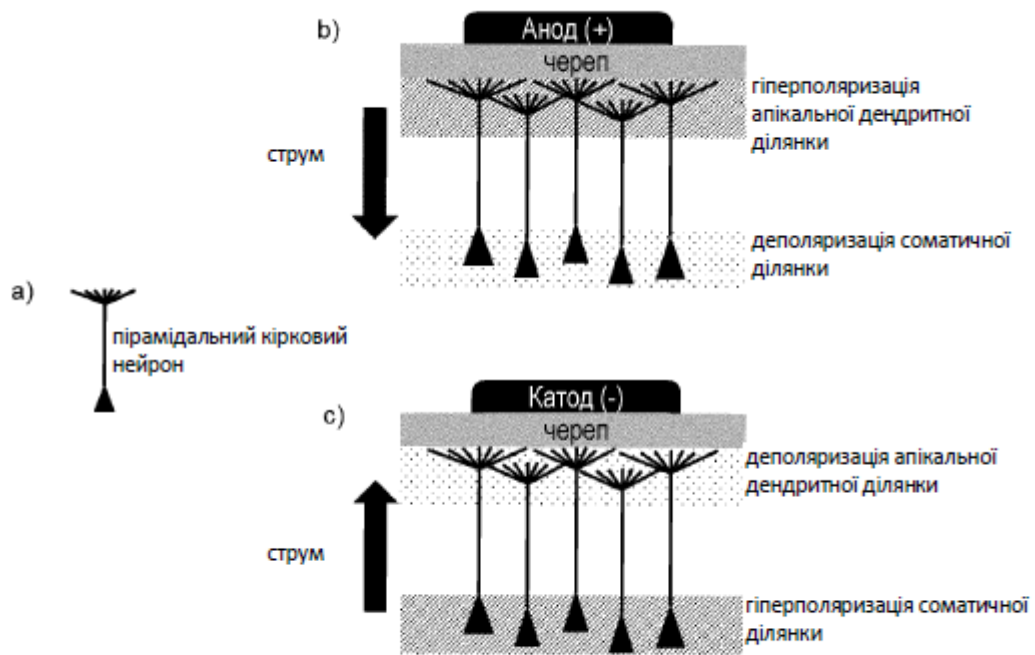
Фігура 8 показує, що попередня обробка нейронної мережі наночастинок із прикладу 1 і обробка високочастотною електростимуляцією (ВЧС) підвищує функціональну дію в порівнянні із групами "Контроль". Цікаво, що поліпшення функціональної дії спостерігається для параметрів, що належать до категорії режим коливань (зазвичай "тривалість спалаху СВ", "площа спалаху СВ" і "кількість сплесків спалаху СВ"), і вони досягають більш сприятливих рівнів, ніж ті, які спостерігають у ВЧС-стимульованій групі "Контроль". Це показує специфічне

до наночастинок ВЧС-медійоване потенціювання, яке може бути корельоване з реструктурованими спалахами, що сприяють зберігання інформації в мережі і, отже, поліпшенням можливості пам'яті нейронної мережі.

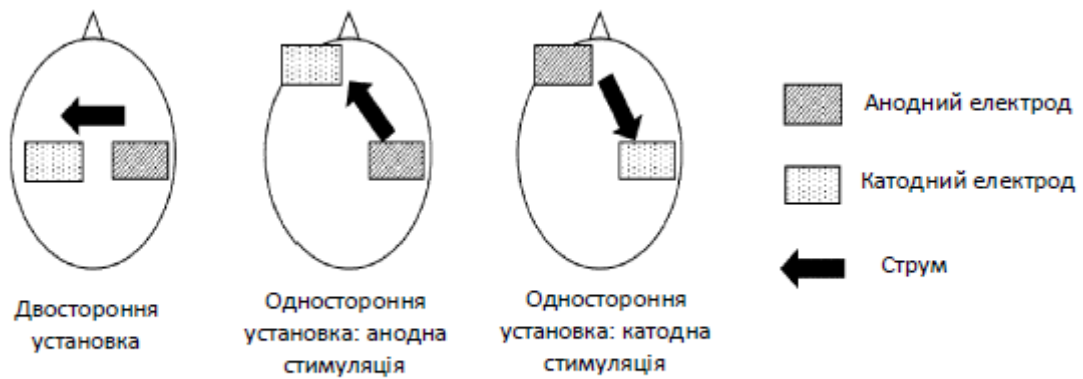
- Ці результати підкреслюють переважні характеристики наночастинок, описаних у даній заявці, у поліпшенні функціональної дії (зв'язки нейронів і зберіганні інформації в нейронній мережі), викликаний електростимуляцією в нейронній мережі.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

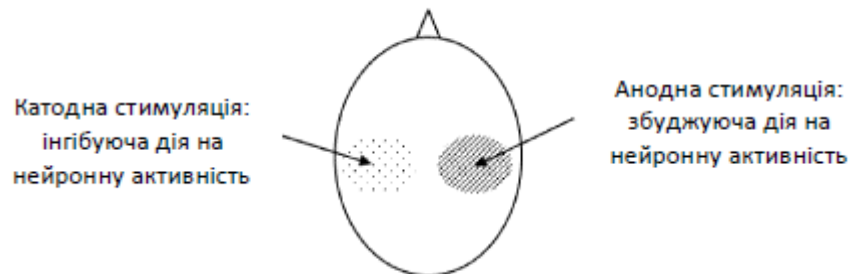
1. Застосування наночастинок або агрегату наночастинок для поліпшення навчання, запам'ятовування та уваги у індивідуума, який потребує цього, коли наночастинку або агрегат наночастинок піддають впливу електричного поля, за яким матеріал наночастинок або агрегату наночастинок являє собою метал, який має стандартний потенціал відновлення E° вище 0,2, причому даний елемент-метал являє собою Au, і де електричне поле застосовують шляхом транскраніальної електростимуляції або транскраніальної магнітної стимуляції.
2. Застосування наночастинок або агрегату наночастинок для поліпшення навчання, запам'ятовування та уваги у індивідуума, який потребує цього, коли наночастинку або агрегат наночастинок піддають впливу електричного поля, за яким матеріал наночастинок або агрегату наночастинок являє собою $BaTiO_3$, і де електричне поле застосовують шляхом транскраніальної електростимуляції або транскраніальної магнітної стимуляції.
3. Застосування наночастинок або агрегату наночастинок для поліпшення навчання, запам'ятовування та уваги у індивідуума, який потребує цього, коли наночастинку або агрегат наночастинок піддають впливу електричного поля, за яким матеріал наночастинок або агрегату наночастинок вибирають із ZrO_2 і HfO_2 , і де електричне поле застосовують шляхом транскраніальної електростимуляції або транскраніальної магнітної стимуляції.
4. Застосування за будь-яким із пп. 1-3, за яким наночастинка або агрегат наночастинок покриті біосумісним матеріалом, який являє собою засіб, який надає негативний заряд поверхні наночастинок або агрегату наночастинок.
5. Застосування за п. 4, за яким засіб, який надає негативний заряд поверхні наночастинок або агрегату наночастинок, вибраний із фосфату, карбоксилату і сульфату.
6. Застосування за будь-яким із пп. 1, 4 або 5, за яким матеріалом наночастинок або агрегату наночастинок є золото, і де наночастинка або агрегат наночастинок покрито біосумісним матеріалом, яким є мезо-2,3-димеркаптобурштинова кислота (ДМБК).
7. Застосування за будь-яким із пп. 3, 4 або 5, за яким матеріалом наночастинок або агрегату наночастинок є ZrO_2 , і де наночастинку або агрегат наночастинок покрито біосумісним матеріалом, яким є гексаметафосфат натрію.
8. Застосування за будь-яким із пп. 1-3, за яким наночастинка або агрегат наночастинок є гідрофільними з нейтральним поверхневим зарядом або покриті біосумісним матеріалом, вибраним із гідрофільного засобу, який надає нейтральний заряд поверхні наночастинок.
9. Застосування за п. 8, за яким гідрофільний засіб, який надає нейтральний заряд поверхні наночастинок, являє собою засіб, який експонує функціональну групу, вибрану зі спирту (R-OH), альдегіду (R-COH), кетону (R-CO-R), складного ефіру (R-COOR), кислоти (R-COOH), тіолу (R-SH), сахариду, ангідриду (RCOOOC-R) і піролу.
10. Застосування за п. 9, за яким матеріалом наночастинок або агрегату наночастинок є золото, і де наночастинку або агрегат наночастинок покрито біосумісним матеріалом, яким є α -метокси- ω -меркаптополі(етилєнглїколь) 20 кДа ("тіол-ПЕГ 20 кДа").
11. Застосування за п. 8, за яким матеріалом наночастинок або агрегату наночастинок є ZrO_2 , і де наночастинку або агрегат наночастинок покрито біосумісним матеріалом, яким є силан-полі(етилєн)глїколь 2 кДа ("Si-ПЕГ 2 кДа").



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

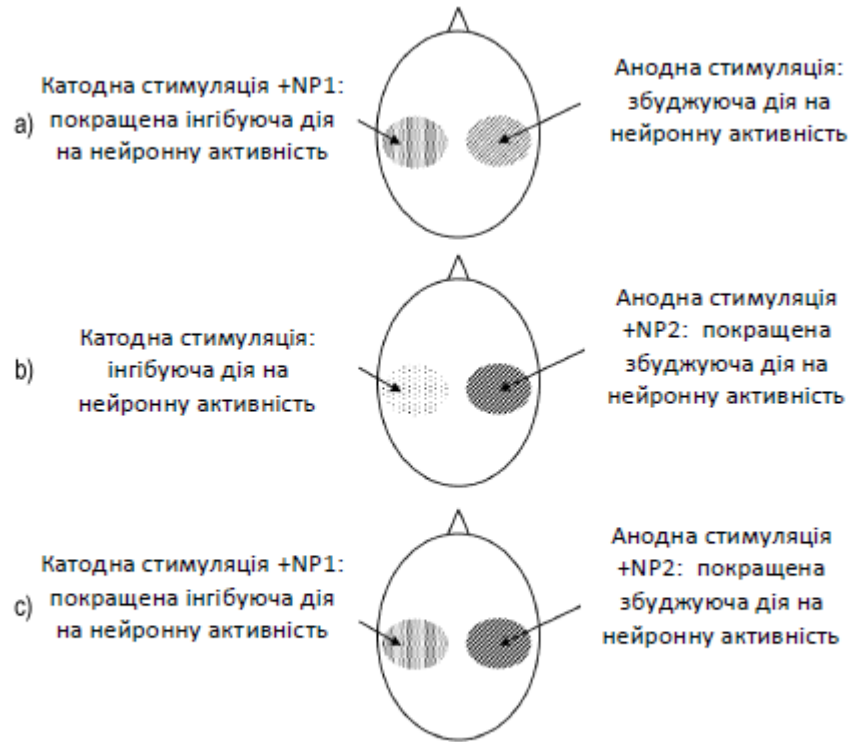


Fig. 4

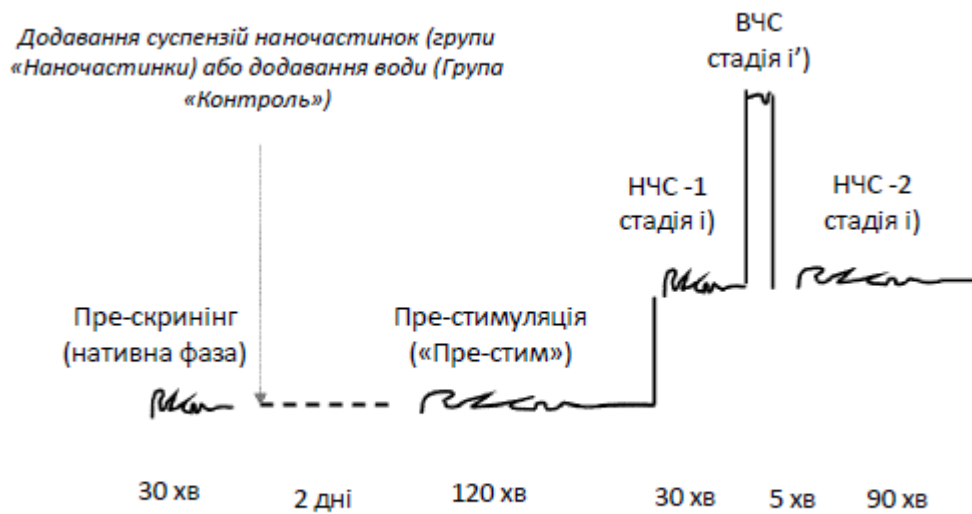


Fig. 5

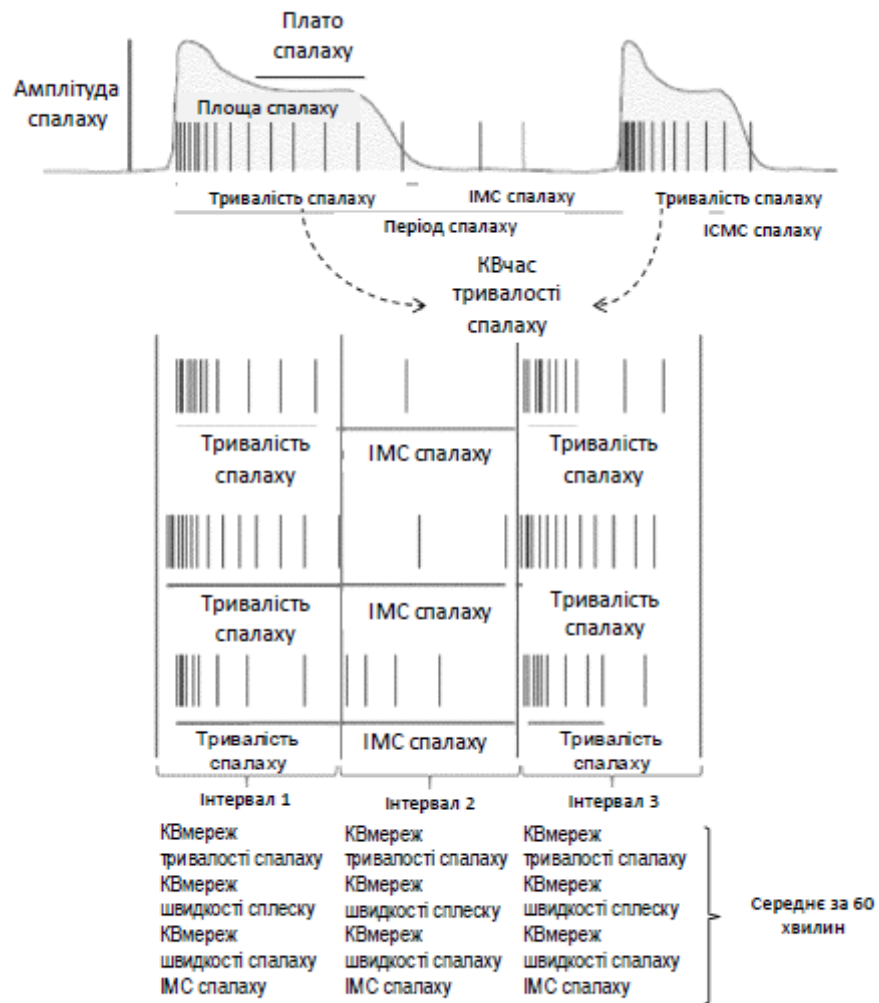
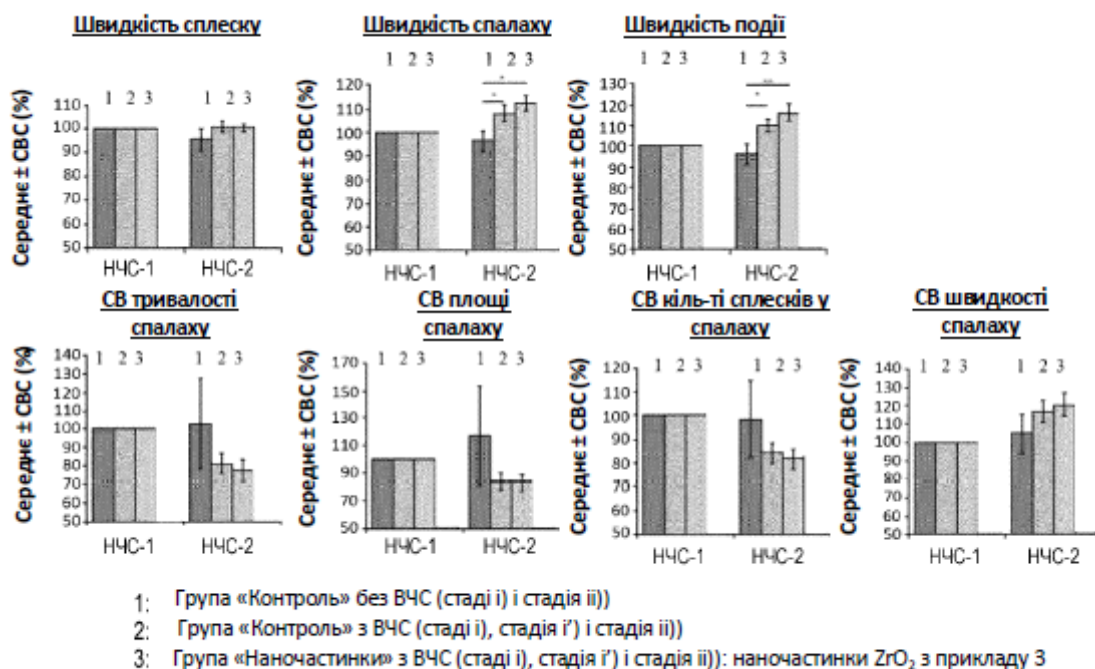
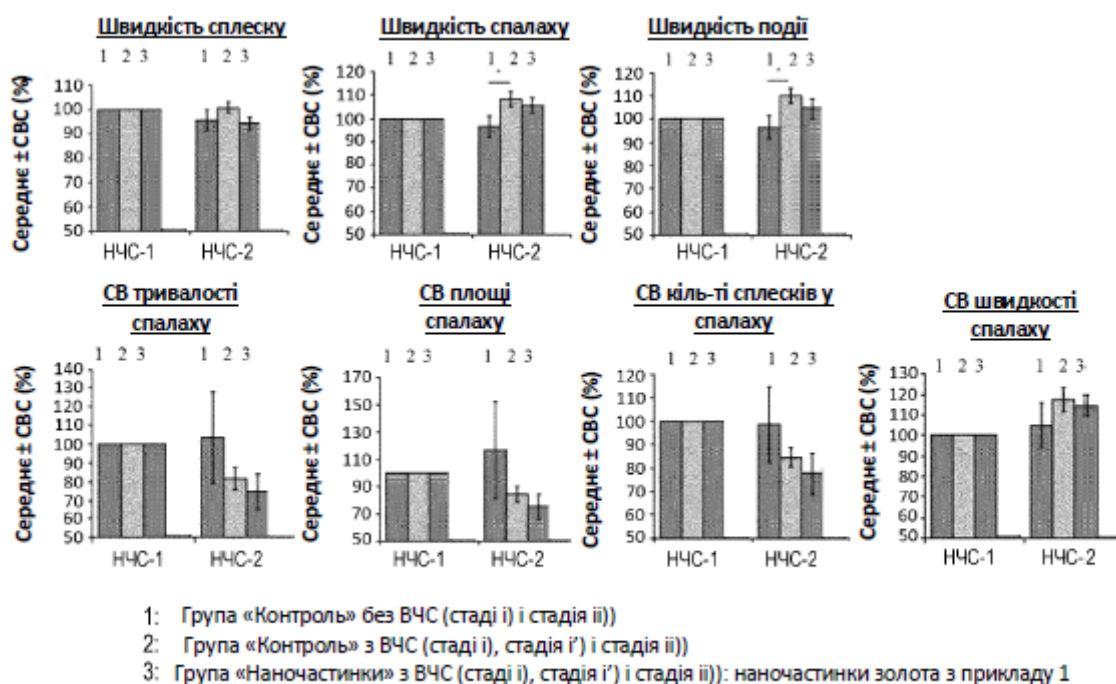


Fig. 6



Фіг. 7



Фіг. 8