

*На правах рукописи*

*Казакова*

**Казакова Татьяна Витальевна**

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ  
МЕТАБОЛИЧЕСКОГО И ЭЛЕМЕНТНОГО ГОМЕОСТАЗА,  
ПОВЕДЕНЧЕСКИХ И КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ПОТОМСТВА  
ПРИ ПРЕНАТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МАРГАНЦА  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

1.5.5. – Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Майкоп – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Оренбургский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Научный руководитель:** **Нотова Светлана Викторовна,**  
доктор медицинских наук, профессор

**Официальные  
оппоненты:** **Осадчук Людмила Владимировна,**  
доктор биологических наук, профессор,  
ФГБНУ Федеральный исследовательский центр  
«Институт цитологии и генетики Сибирского  
отделения Российской академии наук», сектор  
прикладных репродуктивных технологий  
человека, отдел молекулярной генетики человека,  
главный научный сотрудник (г. Новосибирск)

**Хлебникова Надежда Николаевна,**  
доктор биологических наук, ФГБНУ  
«Научно-исследовательский институт общей  
патологии и патофизиологии», лаборатория  
общей патологии нервной системы, ведущий  
научный сотрудник (г. Москва)

**Ведущая организация:** Бюджетное учреждение высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югра «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия» Департамента образования и науки Ханты-Мансийского автономного округа – Югры

Защита состоится 23 октября 2024 г. в 9.00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.267.02 при ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет» по адресу: 385000, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Пионерская, 260, конференц-зал научной библиотеки АГУ.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Д.А. Ашхамафа ФГБОУ ВО «Адыгейский государственный университет» по адресу: 385000, Республика Адыгея, г. Майкоп, ул. Пионерская, 260, и на сайте университета [adygnet.ru/nauka/aspirantura-doktorantura-dissertatsionnye-sovety/dissertation/6142/](http://adygnet.ru/nauka/aspirantura-doktorantura-dissertatsionnye-sovety/dissertation/6142/)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук, доцент



Кузьмин  
Андрей Александрович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Одной из важнейших проблем, стоящих перед современной физиологией, является изучение особенностей адаптации организма человека и животных к изменяющимся условиям среды обитания. Актуальность данной проблемы обусловлена высокими темпами антропогенной трансформации биосферы, вызванной увеличением техногенных потоков различных загрязнителей и изменением биогеохимической организованности среды обитания, что приводит к развитию дезадаптивных процессов в живых системах (Евстафьева Е.В. и др., 2023; Осадчук Л.В. и Осадчук А.В., 2023; Радыш И.В. и др., 2023).

Выработанные в процессе эволюции механизмы регуляции функций в меняющихся условиях являются целесообразными и имеют важное приспособительное значение, направленное на сохранение нормальной жизнедеятельности целостного организма (Агаджанян Н.А., 2012). Однако чрезмерное напряжение регуляторных механизмов приводит к истощению функциональных резервов и потере возможности осуществлять соответствующие перестройки структурно-функциональных связей со средой (Меерсон Ф.З., 1981). Этому способствуют не только экстремальные воздействия окружающей природной среды, но и экологические условия (Severin A.E. et al., 2021). По данным ВОЗ, до 30 % вклада в изменения гомеостатических реакций организма и снижение его адаптационного потенциала вносит именно состояние окружающей среды (Ермакова Н.В. и Торшин В.И., 2019).

Оренбургская область является одним из наиболее неблагоприятных в экологическом и биогеохимическом плане регионов РФ, располагающих крупной многоотраслевой промышленностью (Сальникова Е.В. и др., 2019; Шестакова Е.В. и др., 2023). Согласно Государственному докладу «О состоянии и об охране окружающей среды РФ» и информации Росгидрометра, подземные воды и почвы Оренбуржья содержат повышенный уровень марганца (Mn). По результатам исследования элементного статуса, который является показателем эколого-физиологической адаптации, в волосах жителей, проживающих на данной территории, уровень Mn превышает референтные значения (Скальный А.В., 2018). Известно, что Mn входит в структуру ключевых ферментных систем центральной нервной системы, участвует в функционировании ферментативного звена антиоксидантной защиты организма, энергетическом обмене, поддержании функции иммунной и репродуктивной систем, опорно-двигательного аппарата, а также в процессах детоксикации и других важных физиологических функциях организма (Радыш И.В. и др., 2017). Сообщается, что колебания Mn во внешней среде могут привести к срыву регуляции адаптационных процессов и явиться причиной развития функциональных нарушений различных систем организма (Оберлис Д. и др., 2018; Li L. and Yang X., 2018; Erikson K.M. and Aschner M., 2019; Balachandran R.C. et al., 2020). Подобные данные обосновывают значимость проведения исследований по изучению закономерностей и механизмов адаптации организма в условиях стресс-потенцирующего антропогенного загрязнения среды обитания.

Особого внимания заслуживает изучение действия химических стрессоров экзогенной природы на женский организм. Известно, что адаптивность и резистентность женского организма в значительной степени определяют особенности течения беременности и её исходы (Агаджанян Н.А. и др., 1996). Рождение здорового потомства, способного адаптироваться к условиям окружающей среды, во многом зависит от становления органов и их систем в ходе эмбриогенеза (Нефьодова О.О. и др., 2017; Sewberath Misser V.H. et al.,

2022). При физиологической беременности уровень Mn в пуповинной крови увеличивается, что свидетельствует о высокой биологической потребности плода в данном микроэлементе (Музыка Е.А. и др., 2021; Henn V.C. et al., 2017). Однако в литературе представлены единичные работы, раскрывающие закономерности и механизмы поддержания постоянства внутренней среды на фоне повышенного поступления Mn во время гестации. Возникает предположение, что воздействие Mn в период пренатального развития организма может трансформировать свойственные раннему онтогенезу закономерности формирования регуляторных механизмов на клеточном, тканевом и системном уровнях и привести к изменению характера адаптивных реакций после рождения (Евсюкова И.И., 2011; Hill D.S. et al., 2015).

Реализация физиологических механизмов адаптивной перестройки женского организма в неблагоприятных экологических условиях сопровождается сдвигами элементного гомеостаза и возникновением микроэлементозов (Скальный А.В. и др., 2023). Это связано с тем, что формирование элементного состава организма определяется как его текущей физиологической потребностью в химических элементах, так и во многом зависит от биогеохимических факторов и техногенной нагрузки (Миняйло Л.А. и Корчина Т.Я., 2022). Исследования последних лет показывают большую значимость оценки не только валового содержания элементов в различных биосубстратах, но и отдельных химических форм металлов. Причинами этого является существенная роль металл-лигандных фракций в молекулярных механизмах адаптации организма на различных этапах онтогенеза (Notova S.V. et al., 2022; Michalke B., 2022). Следует отметить, что адаптация женского организма и плода к воздействию стресс-факторов проявляется не только комплексом физиологических и биохимических реакций, но и существенным изменением поведения и когнитивных функций (Стратилов В.А. и др., 2021; Хлебникова Н.Н. и др., 2021).

В связи с вышесказанным, особый интерес представляет изучение закономерностей формирования метаболического и элементного гомеостаза, поведенческих и когнитивных функций материнского организма и потомства в условиях стресс-воздействия избытка марганца.

**Степень разработанности темы.** Большинство научных исследований посвящено изучению состояния функциональных показателей и адаптационных возможностей организма человека в условиях профессиональной деятельности, использующих в рабочем цикле соединения Mn (Mehrfar Y. et al., 2020). В работах показано, что воздействие Mn в высоких дозах приводит к нарушению регуляции стресс-системы рабочих, что является причиной возникновения нейропсихических и эндокринных заболеваний (Чашин М.В. и др., 2014; Lotz A. et al., 2021).

В условиях современных техногенных перемен увеличивается риск хронического воздействия Mn в относительно низких дозах на население не занятого в производстве. В связи с чем растет интерес к работам, в которых оценивается адаптационный потенциал различных групп населения к меняющимся условиям среды обитания (Bouchard M.F. et al., 2018; Adamson S.X. et al., 2018). Особого внимания заслуживают исследования по изучению влияния антропогенного стресса в период физиологической беременности на течение и её исход, развитие плода, а также адаптационные и генеративные возможности организма потомства (Аксенов А.Н. и др., 2022). В результате различных флуктуаций в критический период развития существующая организация систем и подсистем может изменяться, что может стать причиной снижения регуляторной деятельности организма (Шаханова А.В., 2015). В ряде работ было показано, что воздействие стрессовых факторов различной

природы, в том числе и тяжелых металлов, в период пренатального онтогенеза приводило к изменениям функционирования гипоталамо-гипофизарной надпочечниковой системы и поведения потомства (Роговин К.А., 2019; Hartman S. et al., 2018). В экспериментальных работах было установлено, что повышенное воздействие Mn на беременных самок крыс в период плацентарной фазы развития плода способствовало ухудшению памяти и способности к обучению потомства (Гелашвили О.А., 2008; Beasley T.E. et al., 2022; Oshiro W.M. et al., 2022). В исследовании, проведенном Hill D.S. с соавторами (2015) на грызунах, было продемонстрировано, что внутриутробное воздействие Mn с 1 по 10 день гестации, соответствующее эмбриональному и раннему фетальному периодам развития, привело к многочисленным отклонениям в поведении потомства, которые сохранялись и во взрослом возрасте животных.

Необходимо подчеркнуть, что исследований, посвященных изучению адаптационных механизмов женского организма, выявлению особенностей течения гестации и функционального состояния потомства в условиях хронического стресса, обусловленного воздействием Mn недостаточно. Отдаленные последствия воздействия Mn на потомстве второго поколения до настоящего времени не изучены.

Следует добавить, что научные коллективы ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» и Института биоэлементологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет» имеют многолетний опыт работы в области изучения биологических эффектов металлов и их соединений, роли макро- и микроэлементов в организме человека и животных.

**Цель работы:** выявить закономерности формирования метаболического и элементного гомеостаза, поведенческих и когнитивных функций материнского организма и потомства на фоне воздействия марганца в пре- и гестационный периоды.

**Задачи исследования:**

1. Изучить особенности морфофункциональных показателей, репродуктивную способность, поведенческие и когнитивные функции, состояние неспецифических адаптационных реакций у половозрелых крыс в норме и подвергшихся хроническому воздействию марганца.

2. Исследовать на экспериментальных моделях хронического субтоксического перорального и пренатального воздействия марганца состояние белкового, углеводного и липидного обменов, уровни марганецсодержащих ферментов и нейроспецифических показателей.

3. Выявить закономерности формирования элементного гомеостаза у половозрелых крыс в экспериментальных моделях перорального и пренатального воздействия марганца.

4. Изучить на экспериментальных моделях хронического субтоксического перорального и пренатального воздействия марганца закономерности распределения металл-лигандных форм данного химического элемента в сыворотке крови.

5. Установить взаимосвязи между содержанием химических элементов в различных биосубстратах (сыворотка крови, кора головного мозга) и морфобиохимическими параметрами крови лабораторных животных на фоне хронического воздействия марганца.

**Научная новизна работы.** С использованием системного, комплексного и лонгитюдинального подходов в работе впервые:

– установлено, что хронический стресс, обусловленный повышенным воздействием Mn на самок крыс в пре- и гестационный периоды, приводит к устойчивым нарушениям двигательного, эмоционального и исследовательского поведения, ослаблению когнитивных

функций в ближайшем и последующем поколении. В экспериментальных условиях у половозрелых животных первой линии отмечается высокая двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, тревожность в совокупности с ухудшением пространственной ориентации и способности к обучению. У животных второй линии отмечается увеличение эмоциональной напряженности, ориентировочно-исследовательской активности и ухудшение пространственной памяти, однако менее выраженное;

– обнаружено, что хронический стресс, обусловленный воздействием Mn на самок крыс в пре- и гестационный периоды приводит к адапционно-компенсаторной активации ферментных систем организма, что выражается повышением уровня марганецсодержащих ферментов: в сыворотке крови самок крыс отмечается более высокое содержание супероксиддисмутазы и аргиназы, у половозрелых животных первого поколения – аргиназы;

– выявлены закономерности формирования элементного гомеостаза материнского организма и организма половозрелого потомства первого поколения, подвергшихся стресс-потенцирующему действию Mn: в сыворотке крови самок крыс отмечается высокий уровень Mn на фоне более низкого содержания Ca, K, Mg, Cu и Fe, в коре головного мозга отмечается накопление тяжелых металлов Mn, Pb, Hg и Sr на фоне снижения уровня Fe и I; у животных первого поколения в сыворотке крови установлен более низкий уровень K, Mg, Fe и Zn, в коре головного мозга – Mg, Fe, Se и Co на фоне повышенного содержания Mn;

– установлены закономерности распределения металл-лигандных форм Mn на фоне воздействия данного металла на самок крыс в пре- и гестационный периоды. Показано, что снижение адаптационных ресурсов материнского организма и потомства обусловлено повышением уровня низкомолекулярной фракции марганца (Mn-LMM) в сыворотке крови, способствующей накоплению Mn в коре головного мозга, что оказывает нейротоксический эффект и приводит к увеличению содержания в сыворотке крови самок крыс нейроспецифического белка S100B, у половозрелых животных первого поколения – ацетилхолинэстеразы;

– определена взаимосвязь элементного состава различных биосубстратов (сыворотка крови, кора головного мозга) с морфобиохимическими показателями на фоне воздействия Mn. Показано, что Mn-опосредованный стресс крыс приводит к изменениям связей между метаболическими параметрами. Наиболее выраженная внутри- и межсистемная интеграция функционального состояния систем отмечается в организме самок крыс в условиях повышенного перорального поступления Mn в прегестационный период, что свидетельствует о напряжении в работе регуляторных адаптационных механизмов;

– разработана и запатентована модель энцефалопатии у потомства при хроническом субтоксическом воздействии Mn в пренатальный период развития для изучения механизмов действия данного тяжелого металла в эксперименте (патент № 2794816).

**Теоретическая значимость работы.** Полученные в ходе исследования данные дополняют знания о влиянии Mn в период физиологической беременности на регуляторно-адаптивные возможности потомства двух поколений, что имеет важное фундаментальное значение для адаптационной физиологии. Результаты исследования расширяют основные положения концепции о биологической надежности и вносят существенный вклад в фундаментальные теории пренатального и постнатального онтогенеза.

В работе получено новое экспериментально обоснованное знание о вкладе воздействия Mn в период физиологической беременности крыс линии Wistar на формирование определенного поведенческого фенотипа потомства двух поколений. Результаты исследования свидетельствуют о существенном влиянии воздействия Mn в

период пренатального развития на функционирование нервной системы потомства нескольких поколений в более позднем постнатальном онтогенезе.

Исследование биологических эффектов, лежащих в основе нарушения поведенческих и когнитивных реакций с учетом воздействия Mn в период пренатального развития, позволяет раскрыть новые аспекты взаимодействия эндогенных и экзогенных факторов в формировании фенотипа организма. Применяемый комплексный подход оценки элементного статуса с использованием современных технологий анализа химических форм металлов вносит новый вклад в понимание механизмов переноса Mn через гематоэнцефалический барьер, что относится к области фундаментальных знаний.

Таким образом, полученные результаты расширяют теоретические основы физиологии и формируют предпосылки для проведения дальнейших разработок по данной проблеме.

**Практическая значимость работы.** Полученные данные в ходе экспериментального исследования имеют потенциальную практическую значимость. Выявленные изменения в распределении Mn по его металл-лигандным формам в сыворотке крови могут быть использованы при разработке диагностических методов, направленных на оценку возможных последствий хронического субтоксического воздействия Mn на организм в геохимических провинциях с высоким содержанием данного металла, что является основой первичной профилактики, являющейся одним из приоритетных направлений инновационного развития здравоохранения России, закрепленных в «Стратегии развития медицинской науки РФ до 2025 года». В связи с этим, результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать использовать сывороточный уровень низкомолекулярной фракции марганца (Mn-LMM) в качестве предиктора накопления Mn в головном мозге и развития марганец-зависимых неврологических расстройств.

Данные, полученные при изучении влияния Mn на организм, могут быть использованы в лекционных курсах и на практических занятиях в преподавании медико-биологических дисциплин (биология; общая, возрастная, адаптационная и экологическая физиология).

Результаты демонстрируют перспективность продолжения изучения роли хронического субтоксического воздействия Mn в регуляции функций организма, детализации механизмов действия Mn с целью повышения эффективности профилактических и лечебных мероприятий.

**Теоретико-методологическая основа исследования.** Теоретической и методологической основой исследований являются научные труды и разработки отечественных и зарубежных авторов, посвященные изучению механизмов адаптации организма в условиях стресс-потенцирующего антропогенного загрязнения среды обитания. Теоретическую основу диссертации составили научные представления:

- о теории процессов роста и развития, возрастных и адаптационных особенностях физического развития (Аршавский И.А., 1967; Светлов П.Г., 1960; Безруких М.М. и др., 2003);
- о системных механизмах поведения человека и животных (Блум Ф. и др., 1988; Судаков К.В. и Баич М., 1990; Whishaw I.Q. and Kolb B., 2005);
- о роли макро- и микроэлементов в молекулярных механизмах адаптации (Войнар А.О., 1960; Бабенко Г.А., 1965; Панченко Л.Ф. и др., 2004; Скальный А.В., 2004; Радыш И.В. и др., 2017; Оберлис Д. и др., 2018);

- о стрессе и других неспецифических адаптационных реакциях организма (Селье Г., 1960; Гаркави Л.Х., 1990; Агаджанян Н.А., 2012);
- о динамическом равновесии целостного организма с явлениями окружающего мира (Анохин П.К., 1975; Агаджанян Н.А., 2012);
- о донозологической диагностике и вопросах здоровьесбережения (Агаджанян, Н.А. и др., 2006; Баевский Р.М. и Берсенева А.П., 2008).

Методологическую основу исследования составили комплексный, системный и лонгитюдинальный подходы к изучению закономерностей формирования элементного гомеостаза и поведенческих реакций потомства на фоне пренатального воздействия Mn с использованием поведенческих, биохимических, иммунологических, спектральных и хроматографических методов исследования.

**Организация и методы исследования.** Экспериментальные исследования проводились в условиях экспериментально-биологической клиники ФНЦ БСТ РАН, г. Оренбург. В качестве объекта исследования были использованы половозрелые самки крыс линии Wistar (n=80) и их потомство (n=80) в возрасте 12-18 недель (Карнищенко Н.Н. и Грачева С.В., 2010). При соотношении возраста экспериментальных животных с возрастом человека было установлено, что он соответствовал зрелому возрасту согласно общепринятой возрастной периодизации онтогенеза (АПН СССР, 1965; Котеров А.Н. и др., 2018; Sengupta P., 2013). Исследования выполнялись в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), а также согласно рекомендациям «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». Дизайн экспериментов был одобрен локальным этическим комитетом Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (№ 4 от 05.02.2019). Работа выполнена в рамках гранта на проведение крупных научных проектов по приоритетным направлениям научно-технического развития № 075-15-2024-550.

Для достижения поставленных задач эксперимент проводился в несколько этапов (рисунок 1).

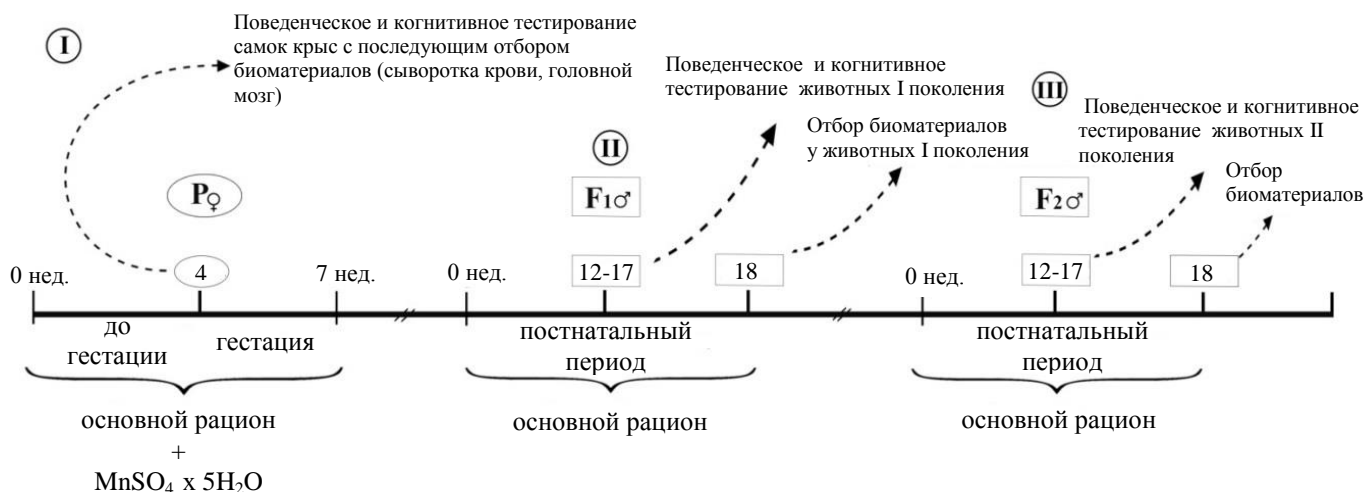


Рисунок 1 – Основные этапы исследования

*Этап I.* Самки крыс в возрасте 12 недель были разделены на контрольную (n=40) и опытную (n=40) группы. Животные опытной группы в течение 4 недель (до гестации) получали основной рацион (ОР) с добавлением пентагидрата сульфата марганца

( $MnSO_4 \times 5H_2O$ ) в дозе 1433 мг/кг. Животные контрольной группы находились на ОР. После окончания экспозиции часть животных была отобрана для изучения эффектов воздействия Mn при пероральном поступлении на взрослый организм крыс. К оставшимся самкам крыс подсаживали интактных самцов с целью получения потомства. Добавление  $MnSO_4 \times 5H_2O$  в рацион самок опытной группы продолжалось в период гестации (3 недели).

*Этап II.* Получено первое поколение, из которого, начиная с 12-недельного возраста, отбирались самцы (n=20 для каждой группы) для изучения возможных отсроченных эффектов пренатального воздействия Mn.

*Этап III.* Оставшихся самок крыс использовали для получения второго поколения, из которого также, начиная с 12-недельного возраста, отбирались самцы (n=20 для каждой группы) для изучения возможных отдаленных эффектов воздействия Mn.

Таким образом, в ходе проведения эксперимента были сформированы следующие группы: контроль (самки), опыт (самки) – пероральное воздействие Mn; контроль I (потомство), опыт I (потомство) – первое поколение (пренатальное воздействие Mn); контроль II (потомство), опыт II (потомство) – второе поколение (отдаленное воздействие Mn).

*Обоснование вводимой дозы.* Для исключения дополнительного стрессового воздействия на лабораторных животных Mn добавляли в общий рацион. Ориентируясь на рекомендации по моделированию нейротоксического воздействия Mn, вносимая доза  $MnSO_4 \times 5H_2O$  в диету составляла 1433 мг/кг корма (Taylor C.A. et al., 2020). Таким образом, суммарно, с учетом изначального содержания Mn в корме и его молярной концентрации в пентагидратной форме, экспериментальная диета животных содержала 389,7 мг/кг Mn. Исходя из этого, в пересчете на живую массу, ежедневно каждое животное получало Mn в дозе 64,4 мг/кг. Выбранная доза соответствовала субтоксической величине, способной приводить к развитию поведенческих и когнитивных нарушений у грызунов (Liu X. et al., 2006; Kern C.H. and Smith D.R., 2011; Beaudin S.A. et al., 2017; Conley T.E. et al., 2020; Taylor C.A. et al., 2020). Согласно данным информационной системы GESTIS Substance Database, используемая дозировка была в 12 раз меньше  $LD_{50}$ .

Основные методы, используемые на всех этапах исследования, представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Методы исследования

Задачи	Объект	Методы
Оценка морфофункционального состояния животных	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	- Регистрация изменения внешних признаков и степени активности животных (Шельгин К.В. и др., 2002) - Регистрация динамики массы тела и отдельных органов животных, расчет массового коэффициента органов (МК) - Регистрация появления шерстяного покрова, прорезывания резцов и открытия глаз
Изучение репродуктивной способности животных, течения и исходов беременности	F <sub>0♀</sub>	- Фиксирование беременности методом вагинальных мазков (Владимирская Т.Э. и др., 2011) - Расчет индексов плодовитости и беременности - Регистрация сроков беременности, количества крысят в помете, размера и массы тела животных при рождении
Оценка поведения и когнитивных способностей	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	- Тест «Открытое поле» - Тест «Черно-белая камера» - Тест «Водный лабиринт Морриса»
Определение морфологических и биохимических	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	- Автоматический геманализатор URIT 2900 Vet Plus (Китай), оценка реакции адаптации животных по методу Гаркави Л.Х. (1990)

Продолжение таблицы 1

Задачи	Объект	Методы
показателей крови		- Биохимический анализатор CS-T240 (Китай)
Оценка уровня марганецсодержащих ферментов и нейроспецифических показателей	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	- Иммуноферментный анализ с использованием приборов Униплан и Проплан (ЗАО «Пикон», Россия)
Оценка валового содержания химических элементов; определение химических форм Mn	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	- Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой с помощью масс-спектрометра NexION 300D (Perkin Elmer NexION 300D ICP Mass Spectrometer, США) в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографии PerkinElmer (Series 200)
Математическая обработка данных	F <sub>0♀</sub> F <sub>1♂</sub> F <sub>2♂</sub>	Статистический пакет «STATISTICA 10» (США): U-критерий Манна-Уитни, метод ранговых корреляций Спирмена (Зайцев В.М. и др., 2006)

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Хроническое субтоксическое воздействие Mn на самок крыс в прегестационный период приводит к формированию напряжения адаптационных механизмов, нарушению метаболического и элементного гомеостаза, снижению уровня фертильности.

2. Хроническое субтоксическое воздействие Mn в пре- и гестационном периодах приводит к формированию дисфункциональных изменений в морфогенезе, что выражается в задержке физического развития, поведенческих и когнитивных нарушениях потомства в двух поколениях.

3. Хроническое субтоксическое воздействие Mn на самок крыс в пре- и гестационном периодах приводит к формированию дисфункциональных отклонений в метаболическом и элементном гомеостазе, опосредующих снижение функциональных резервов у половозрелого потомства первого поколения.

4. Хроническое субтоксическое воздействие Mn в пре- и гестационном периодах приводит к дисфункции холинергической системы потомства первого поколения.

5. Снижение адаптационно-функциональных резервов материнского организма и потомства первой линии связано с повышенным образованием низкомолекулярной фракции Mn.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность проведенного исследования и выводов определяется обоснованностью и четким методологическим подходом, позволяющим в полной мере реализовать задачи, поставленные в работе; формированием достаточного количества (n=160) наблюдений; наличием групп сравнения; использованием апробированных методов когнитивного и поведенческого исследования (тест «Водный лабиринт Морриса», тест «Открытое поле», тест «Черно-белая камера»), входящих в перечень установок для выполнения психофармакологических тестов согласно приказу Минздрава России № 281 от 30.04.2013; использованием современных высокочувствительных аналитических методов (масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой, высокоэффективная жидкостная хроматография, иммуноферментный анализ), проведением исследований в аттестованных лабораториях, что обеспечивает необходимую точность измерений; использованием адекватных поставленным задачам непараметрических принципов обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна-Уитни, метод ранговых корреляций Спирмена); личным участием автора во всех этапах работы, обработки, анализа и интерпретации полученных данных.

**Внедрение результатов исследования.** Результаты исследования используются в учебном процессе на химико-биологическом факультете ОГУ при подготовке бакалавров, специалистов, магистров и кадров высшей квалификации по направлению 06.00.00 и в работе лаборатории металломики Института биоэлементологии (акт внедрения № 145 от 19.12.2023), в ФНЦ БСТ РАН при подготовке магистров и кадров высшей квалификации по направлению 36.00.00 (акт внедрения № 01-01-27/460 от 29.08.2023).

**Апробация результатов исследования.** Основные материалы диссертации изложены на III Всероссийской научно-практической конференции «Физиология человека» (Чебоксары, 2020), Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, 2020), V Международной научно-практической конференции «Биоэлементы» (Оренбург, 2021), III Объединённом научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII Съезде физиологов СНГ, VII Съезде биохимиков России, X Российском Симпозиуме «Белки и пептиды» (Сочи, 2021), 45-ом Конгрессе Федераций Европейских Биохимических Обществ «FEBS Open Bio» (Любляна, Словения, 2021), XIX Симпозиуме с международным участием «Эколого-физиологические проблемы адаптации» (Казань, 2022); IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Агаджаньяновские чтения» (Москва, 2023); XXIV Съезде Российского Физиологического Общества им. И.П. Павлова (Санкт-Петербург, 2023).

**Соответствие содержания диссертации паспорту специальности.** Направление диссертационного исследования соответствует п. 1 – закономерности и механизмы поддержания постоянства внутренней среды организма; п. 5 – организация, динамика и специфика физиологических процессов на всех стадиях развития организма; п. 8 – физиологические основы высшей нервной деятельности у животных и психической деятельности человека (механизмы обучения, памяти, эмоций, сознания, речи, организации целенаправленного поведения и др.); п. 10 – закономерности и механизмы адаптации организма к факторам внешней среды (географическим, экологическим, социальным / зоосоциальным) паспорта специальности 1.5.5. – Физиология человека и животных (биологические науки).

**Публикации.** Всего по материалам диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 1 в журнале K1 и 3 в журналах K2, входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций и 6 в журналах, входящих в перечень изданий Scopus и Web of Science, зарегистрирован 1 патент.

**Личный вклад автора.** Автором лично разработан дизайн исследования, проведены эксперименты на животных и получены первичные данные. Изучены зарубежные и отечественные источники литературы. Автором самостоятельно осуществлена статистическая обработка данных, написание текста диссертации и статей в журналы. Автором сформулированы основные положения, выводы и подготовлена диссертационная работа. В целом, личный вклад автора в выполнение исследования составил 90 %.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 190 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 33 рисунками и 21 таблицей. Указатель литературы содержит 120 отечественных и 260 зарубежных источников.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования показали, что воздействие Mn не привело к изменениям внешних признаков и степени активности животных всех экспериментальных групп согласно шкале Шелыгина К.В. и соавторов.

У животных опытной группы (самки) на протяжении всего эксперимента отмечался более низкий вес тела при сравнении с контролем (рисунок 2).

При изучении репродуктивной способности самок крыс на фоне перорального воздействия Mn в прегестационный период выявлен более низкий индекс плодовитости и беременности на 20 % и 11,5 % по сравнению с контролем, соответственно. При оценке течения и исходов беременности животных было установлено, что сроки родов регистрировались раньше на 1,6 дня ( $p=0,04$ ) относительно контроля; масса тела новорожденных животных и их размер были меньше контрольных значений на 20 % ( $p=0,02$ ). Таким образом, пероральное воздействие Mn в пре- и гестационный периоды оказывает негативные последствия на генеративную функцию животных. Полученные результаты согласуются с работами, демонстрирующими снижение фертильности животных при длительном воздействии Mn (Sengupta P. et al., 2015; Souza T.L. et al., 2019).

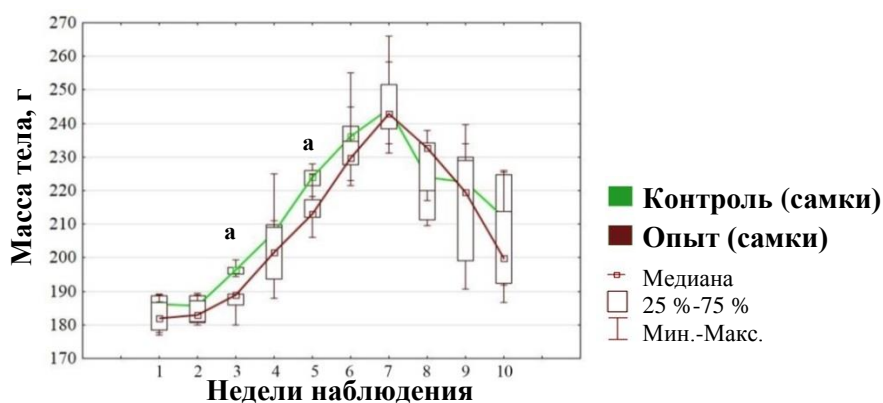


Рисунок 2 – Динамика массы тела самок крыс в прегестационный (1-4 нед.) и гестационный (5-7 нед.) периоды, г

Примечание – а – ( $p \leq 0,05$ ) – р-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок.

Воздействие Mn приводило к задержке физического развития потомства (рисунок 3А, 3Б).

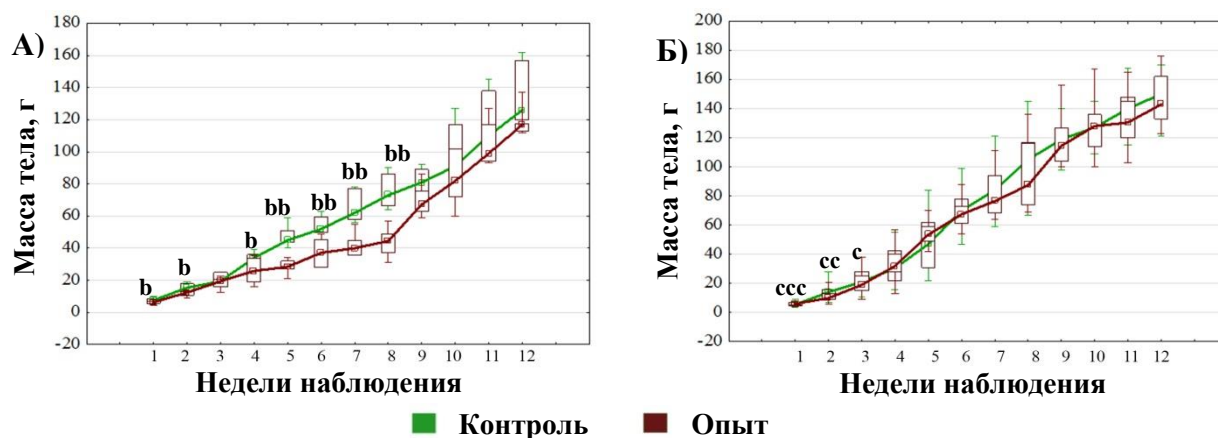


Рисунок 3 – Динамика массы тела животных опытной группы первого (А) и второго (Б) поколения, г

Примечание – b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – р-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I; c – ( $p \leq 0,05$ ); cc – ( $p \leq 0,01$ ); ccc – ( $p \leq 0,001$ ) – р-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

В опытной группе I отмечалось более позднее открытие глаз (на 2,5 суток позже;  $p=0,03$ ), появление шерстяного покрова и прорезывание резцов при сравнении с контролем. На 1, 2, 4, 5, 7 и 8-ю недели постнатального развития вес крыс достоверно оставался ниже контрольных значений на 19, 24, 37, 29, 35 и 39 %, соответственно. Вес новорожденных животных опытной группы II был ниже на 8 % ( $p=0,0005$ ) относительно контроля. На 2-ой и 3-й неделе постнатального развития масса крысят оставалась ниже на 29 % ( $p=0,007$ ) и 9,5 % ( $p=0,02$ ), соответственно. В ходе дальнейшего развития масса животных практически сравнивалась с показателями контроля. У потомства двух поколений прослеживалась тенденция к более низким значениям МК мозга. Анализ полученных данных дает основание утверждать, что воздействие Мп в период пренатального развития оказывает негативное влияние на физическое развитие крысят. Полученные результаты согласуются с ранее проведенными исследованиями (Eum J.H. et al., 2014; Ashley-Martin J. et al., 2018; Dai Y. et al., 2021).

По результатам оценки поведения животных было установлено, что локомоторная активность самок опытной группы была ниже, чем в контроле – расстояние, пройденное животными в тесте и скорость передвижения, были меньше, чем в контроле на 20 ( $p=0,01$ ) и 23 % ( $p=0,03$ ), соответственно, при сравнении центильных значений. Однако была выявлена более высокая ориентировочно-исследовательская активность, которая проявлялась частым обнюхиванием нор –  $Q_{25}$  опыта было больше  $Q_{75}$  контроля на 33,3 % ( $p=0,007$ ) (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели (Ме ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ )) поведения самок крыс в тесте «Открытое поле»

Показатели	Контроль (самки)	Опыт (самки)
Общее расстояние (см)	1 284,0 (1 262,2-1 362,2)	943,77 (919,84-1 022,04) <sup>aa</sup>
Скорость (см/с)	5,87 (5,6-6,05)	3,66 (3,1-4,3) <sup>a</sup>
Суммарный груминг	3,5 (3,0-4,0)	5,5 (4,0-7,0)
Дефекация	1,5 (0,0-2,0)	3,5 (2,0-4,0)
Обследование отверстий	2,0 (1,0-3,0)	4,5 (4,0-5,0) <sup>aa</sup>
Примечание – a – ( $p \leq 0,05$ ); aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок.		

У животных опытной группы I (потомство), напротив, была зафиксирована высокая двигательная активность. Расстояние, пройденное крысами в арене, было больше на 86 % ( $p=0,03$ ), скорость передвижения животных выше на 23 % ( $p=0,01$ ), количество исследуемых нор больше на 20 % ( $p=0,003$ ) при сравнении  $Q_{25}$  опыта I и  $Q_{75}$  контроля I (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели (Ме ( $Q_{25}$ - $Q_{75}$ )) поведения животных первого поколения в тесте «Открытое поле»

Показатели	Контроль I (потомство)	Опыт I (потомство)
Общее расстояние (см)	1 127,5 (1 061,9-1 205,4)	2 647,7 (2 245,5-3 126,6) <sup>b</sup>
Скорость (см/с)	4,42 (4,26-5,43)	7,34 (6,67-7,53) <sup>bb</sup>
Суммарный груминг	2,0 (0,5-4,0)	4,0 (3,0-5,0)
Дефекация	2,0 (1,0-3,0)	4,0 (3,0-5,0) <sup>bbb</sup>
Обследование отверстий	4,0 (1,0-5,0)	8,0 (6,0-9,5) <sup>bb</sup>
Примечание – b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ); bbb – ( $p \leq 0,001$ ); – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I.		

У животных опытной группы II (потомство) количество фекальных болюсов было больше относительно контроля –  $Q_{75}$  опыта II больше  $Q_{75}$  контроля II на 67 % ( $p=0,002$ ).

Частота обследования отверстий также была выше в опытной группе –  $Q_{25}$  больше  $Q_{75}$  на 50 % ( $p=0,002$ ) (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели ( $Me (Q_{25}-Q_{75})$ ) поведения животных второго поколения в тесте «Открытое поле»

Показатели	Контроль II (потомство)	Опыт II (потомство)
Общее расстояние (см)	1 262,2 (1 239,8-1 301,3)	2 072,1 (1 301,3-2 266,6)
Скорость (см/с)	6,58 (5,74-6,77)	6,86 (6,77-7,14)
Суммарный груминг	3,0 (2,0-4,0)	3,0 (2,0-5,0)
Дефекация	2,0 (1,0-3,0)	4,0 (3,0-5,0) <sup>cc</sup>
Обследование отверстий	2,0 (0,5-4,0)	7,0 (6,0-8,0) <sup>cc</sup>

Примечание – cc – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

При оценке пространственной ориентации и памяти животных было показано, что самки опытной группы характеризовались более длительным латентным периодом и большим пройденным расстоянием. Было зарегистрировано, что на 2-ой день обучения животным потребовалось больше времени на нахождение платформы на 98 % ( $p=0,03$ ). Аналогичные отличия были выявлены на 3, 4 и 5-ый день проведения водного теста (рисунок 4А, 4Б).

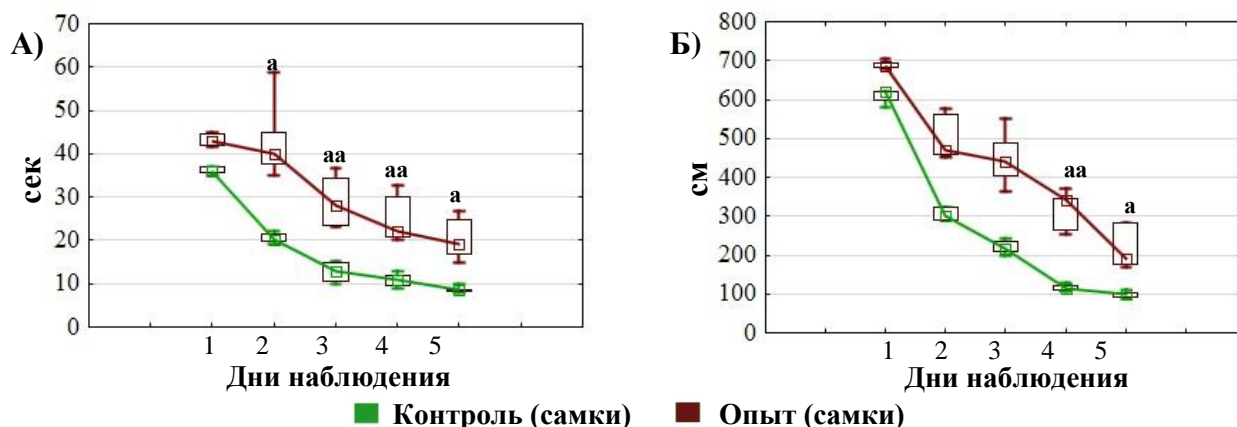


Рисунок 4 – Латентный период нахождения платформы (А) и длина траектории ее поиска (Б) самками крыс

Примечание – a – ( $p \leq 0,05$ ); aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок.

При анализе эффектов пренатального воздействия Мп было установлено, что опытным особям I (потомство) требовалось больше времени, чтобы найти платформу – значение  $Q_{25}$  опыта I было больше  $Q_{75}$  контроля I на 32 % ( $p=0,05$ ) в 1-й день тренировки; на 141 % ( $p=0,002$ ) во 2-ой день; на 136 % ( $p=0,007$ ) в 3-й день и на 298 % ( $p=0,03$ ) в 4-й день (рисунок 5А). Аналогичные изменения были характерны и для расстояния, которое преодолели животные опытной группы I (потомство) (рисунок 5Б).

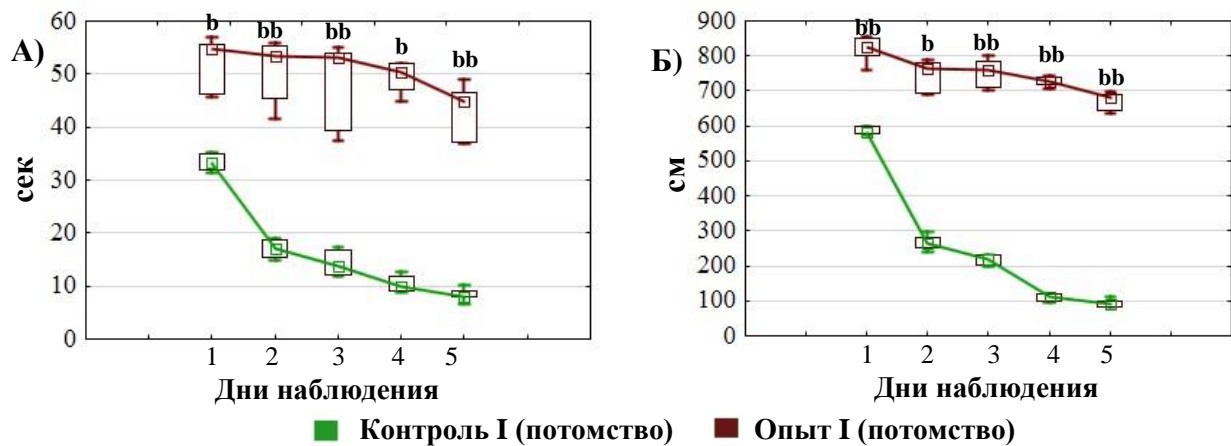


Рисунок 5 – Латентный период нахождения платформы (А) и длина траектории ее поиска (Б) животными первого поколения

Примечание – b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I.

У животных опытной группы II (потомство) латентный период и длина траектории поиска платформы практически не отличались от значений контроля с 1 по 4 обучающий день (рисунок 6А, 6Б). Однако во время оценки прочности следа памяти (5-ый день тестирования) было выявлено, что время, затраченное крысами до достижения целевого квадранта, в котором ранее находилась платформа, было больше – значение  $Q_{25}$  опыта II больше  $Q_{75}$  контроля II на 140 % ( $p=0,03$ ). Длина траектории поиска платформы у животных данной группы также увеличилась на 142 % ( $p=0,002$ ) при сравнении центильных значений.

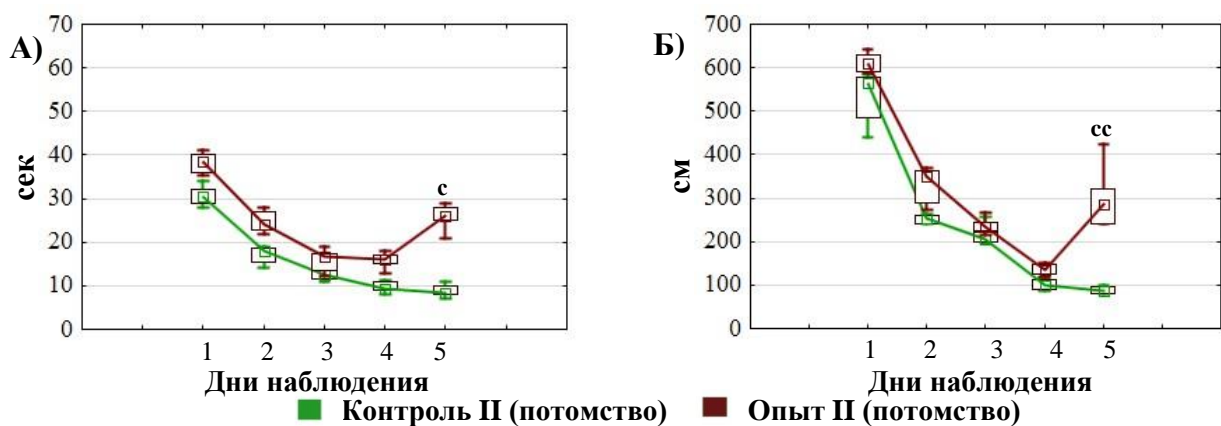


Рисунок 6 – Латентный период нахождения платформы (А) и длина траектории ее поиска (Б) животными второго поколения

Примечание – c – ( $p \leq 0,05$ ); cc – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

Таким образом, полученные результаты поведенческого и когнитивного тестирования подтвердили, что на фоне пролонгированного перорального поступления Mn в организм, а также его пренатального воздействия у животных возникают нарушения двигательной активности, эмоциональных и когнитивных функций. Выявленные аномальные поведенческие фенотипы у животных  $F_1$  соответствовали модели гиперактивного поведения, что согласуется с рядом исследований (Carvalho C.F. et al., 2018; Bouchard M.F. et al., 2018; Conley T.E. et al., 2020). Отклонения в поведенческих и когнитивных функциях  $F_2$ , возможно, связаны с эпигенетическими изменениями (Tarale N.S. et al., 2016; Lindner S. et al., 2022). По

данным Hill D.S. (2015) и соавторов, воздействие тяжелых металлов в период внутриутробного развития приводит к изменению статуса метилирования и изменению экспрессии генов у потомства, сопровождающееся множественными поведенческими отклонениями.

При оценке морфологических показателей крови было выявлено, что уровень лейкоцитов у самок крыс, подвергшихся пероральному воздействию Mn, был ниже контрольных значений на 40 % ( $p=0,02$ ), при этом процентное содержание лимфоцитов превышало контроль на 8 % ( $p=0,01$ ), отмечалась тенденция к более высокому содержанию моноцитов на фоне снижения нейтрофилов. Содержание тромбоцитов было ниже в опытной группе (самки) на 7 % ( $p=0,04$ ) относительно контроля. Аналогичные изменения в гематологических показателях крови были зарегистрированы на фоне воздействия солей Mn в исследовании индийских ученых (Sharma J. and Langer S., 2014). У животных опытных групп I и II данные показатели находились в пределах контрольных значений (таблица 5).

Согласно критерию определения неспецифических адаптационных реакций по лейкоцитарной формуле было выявлено, что полученные изменения в показателях белой крови при пероральном воздействии Mn соответствовали реакции активации (Гаркави Л.Х. и др., 1990). При рассмотрении индивидуальных анализов было выявлено, что у 33 % животных опытной группы (самки) отмечалась реакция повышенной активации, что свидетельствует о напряжении механизмов адаптации; 42 % животных имели реакцию спокойной активации и 25 % – реакцию тренировки (РТ), что свидетельствует об удовлетворительной адаптации организма к воздействию Mn. Практически у всех животных контрольной группы (самки) отмечалась РТ.

Таблица 5 – Морфологические показатели (Me (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>)) крови животных

Показатели	Группы		Нормы *
	Контроль (самки)	Опыт (самки)	
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	8,7 (5,23-8,81)	5,13 (3,55-5,96) <sup>a</sup>	3-17
Лимфоциты, %	58,9 (43,9-62,6)	66,9 (58,7-72,8) <sup>aa</sup>	55-83
Моноциты, %	5,45 (3,75-6,6)	6,3 (4,4-12,1)	0-6
Нейтрофилы, %	33,7 (27,9-36,3)	23,6 (17,8-29,3)	13-36
Эозинофилы, %	2,1 (1,5-2,9)	1,9 (1,2-2,77)	0-4
Базофилы, %	0,9 (0,7-1,5)	1,0 (0,6-1,45)	0-1
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	6,05 (5,87-6,06)	5,8 (5,5-6,12)	5-10
Гемоглобин, г/л	132,0 (116,0-133,0)	128,0 (125,0-130,0)	120-170
Гематокрит, %	42,2 (40,5-42,6)	41,1 (41,0-44,5)	40-50
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л	607,5 (506,7-636,5)	564,0 (446,2-605,7) <sup>a</sup>	200-1500
Примечание – aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок; * – согласно данным Sharp P.E. (1998).			

Таким образом, хроническое субтоксическое пероральное воздействие Mn сопровождается признаками напряжения адаптационных механизмов, следствием чего может явиться нарушение взаимодействия между функциональными системами организма и развитие неблагоприятных адаптационных реакций (стресса и переактивации) (Агаджанян Н.А. и др., 2010).

Анализ биохимических показателей крови выявил, что в опытной группе (самки) уровень глюкозы, холестерина и триглицеридов при сравнении значений медиан был достоверно выше контрольных значений на 80, 11 и 72 %, соответственно (рисунок 7).

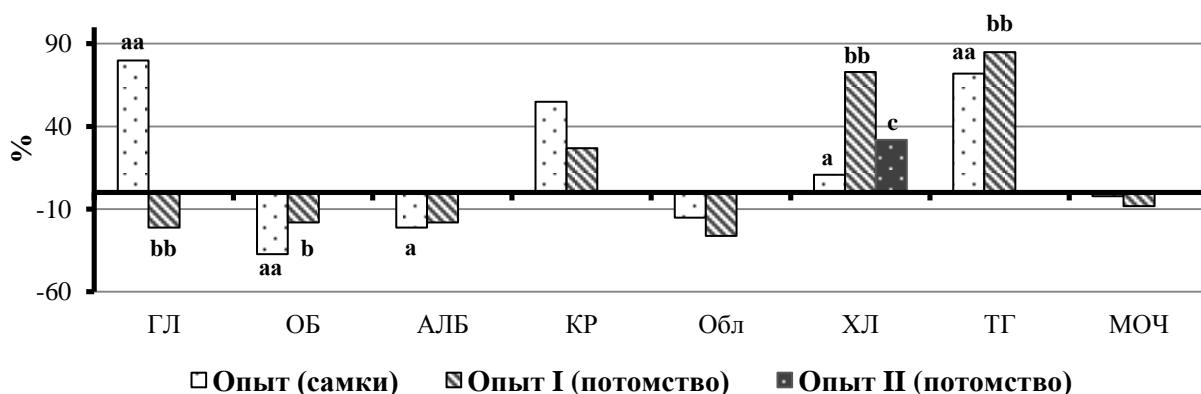


Рисунок 7 – Относительные значения содержания биохимических показателей крови животных опытных групп по сравнению с контролем, %

1 Примечание – ГЛ – глюкоза; ОБ – общий белок; АЛБ – альбумины; КР – креатинин; Обл – общий билирубин; ХЛ – холестерин; ТГ – триглицериды; МОЧ – мочевины.

2 Примечание – Ось X (0) – уровень биохимических показателей в контрольной группе.

3 Примечание – a – ( $p \leq 0,05$ ); aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок; b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I; c – ( $p \leq 0,05$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

На фоне этого, уровень общего белка и альбумина был статистически значимо ниже на 37 и 21 %. У животных опытной группы I (потомство) установлено, что уровень холестерина и триглицеридов был статистически значимо выше контрольных значений на 73 и 85 %. Уровень глюкозы и общего белка был достоверно ниже контроля на 21 и 18 %, соответственно. У животных опытной группы II (потомство) практически все анализируемые биохимические параметры крови находились в пределах контрольных значений, исключением явился холестерин, уровень которого превышал статистически значимо контроль на 38 % (рисунок 7).

Таким образом, биохимический анализ крови показал, что, независимо от способа поступления в организм, Mn оказывает негативное влияние на углеводный, белковый и липидный метаболизм. Согласно исследованиям китайских ученых, у крыс, получавших питьевую воду с Mn, отмечалось выраженное изменение уровней многих метаболитов в крови (Wang H. et al., 2017). Предполагается, что накопление Mn в организме приводит к образованию активных форм кислорода, и, следовательно, окислительному стрессу, который служит триггером для развития метаболических нарушений (Li L. and Yang X. et al., 2018).

Актуальным является поиск маркеров ответных реакций организма на воздействие тяжёлых металлов. Эти показатели представляют собой принципиально новые молекулярные биологические индикаторы, использование которых может значительно повысить эффективность диагностических и профилактических мероприятий. В связи с этим, была проведена оценка уровней марганецсодержащих ферментов (АРГ1, СОД2) и нейроспецифических показателей (АХЭ, белок S100B) в сыворотке крови животных (рисунок 8).

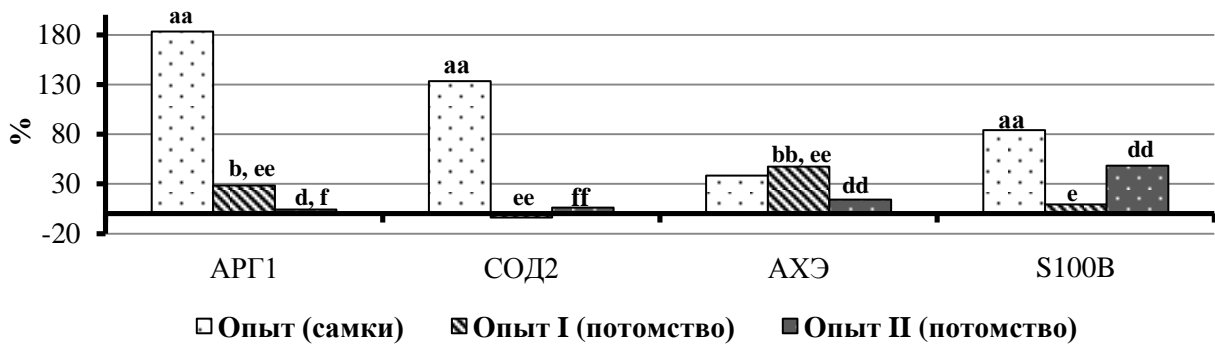


Рисунок 8 – Относительные значения содержания марганецсодержащих ферментов и нейроспецифических показателей животных опытных групп по сравнению с контролем

1 Примечание – Ось X (0) – уровень биохимических показателей в контрольной группе.

2 Примечание – aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок; b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I; d – ( $p \leq 0,05$ ); dd – ( $p \leq 0,01$ ); – p-уровень при сравнении опытной группы II (потомство) с опытной группой I (потомство); e – ( $p \leq 0,05$ ); ee – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной группы I (потомство) с опытной группой (самки); f – ( $p \leq 0,05$ ), ff – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной группы II (потомство) с опытной группой (самки).

Достоверные отклонения в содержании АРГ1 и СОД2 были выявлены в опытной группе (самки), уровни которых были выше контрольных значений на 183 % ( $p=0,01$ ) и 133 % ( $p=0,01$ ), соответственно. У животных опытной группы I уровень АРГ1 был статистически значимо выше контроля на 28 %. Известно, что Mn выступает в качестве сильного комплексообразователя, в связи с чем повышение уровней марганецсодержащих ферментов могло носить адапционно-компенсаторный механизм, направленный на снижение содержания свободных химически активных форм Mn (Michalke V. et al., 2014). Увеличение уровня СОД2 может свидетельствовать об адаптивном ответе организма на состояние окислительного стресса, на фоне которого идет реактивная мобилизация антиоксидантных резервов. Наравне с этим, изменение уровня ферментов в сыворотке крови является полезным индикатором повреждения тканей за счет их системного высвобождения из различных клеток в кровотоке. АРГ1 высоко экспрессируется в клетках печени, поэтому может быть использована в качестве специфического маркера повреждения данного органа (Tarrant J., 2017).

Достоверные изменения уровня АХЭ были выявлены в опытной группе I (потомство) – содержание данного фермента превышало контроль на 47 % ( $p=0,01$ ). В опытной группе (самки) и опытной группе II (потомство) был зафиксирован более высокий уровень белка S100B на 84 % ( $p=0,01$ ) и 48 %, соответственно. Установленные изменения в содержании данных показателей могут свидетельствовать о возможном изменении проницаемости гематоэнцефалического барьера и нарушении функционирования холинергической системы (Santos D. et al., 2012; Fan X.M. et al., 2020; Nyarko-Danquah I. et al., 2020). Полученные результаты подтверждают нейротоксическое действие Mn и обосновывают причину наблюдаемых нарушений в процессах обучения, памяти и двигательной активности животных.

Как известно, отклонения в балансе химических элементов могут служить основой возникновения функциональных изменений в различных физиологических системах (Осипова Е.В., 2005). Сравнительный анализ содержания макро- и микроэлементов выявил, что у животных опытной группы (самки) на фоне перорального воздействия Mn отмечалось

повышение содержания данного микроэлемента в сыворотке крови на 70 % ( $p=0,01$ ), также фиксировалась тенденция к увеличению содержания I и Se. На фоне этого было установлено, что уровень Ca, K, Mg, Fe и Cu был ниже контрольных значений на 8 ( $p=0,003$ ), 25 ( $p=0,002$ ), 19 ( $p=0,03$ ), 10 ( $p=0,02$ ) и 24 % ( $p=0,003$ ), отмечалась тенденция к снижению P и Zn (рисунок 9). Полученные результаты согласуются с данными Scheuhammer A.M. и Cherian M.G. (1983).

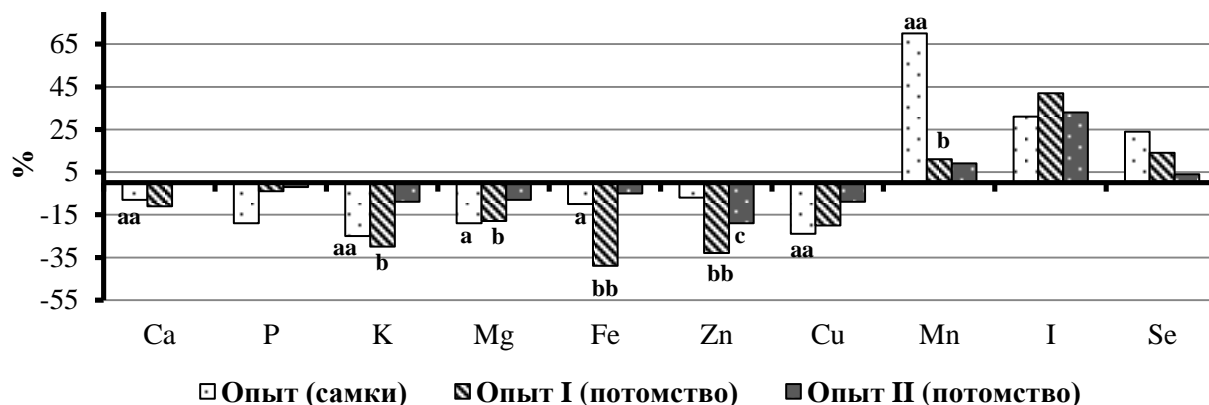


Рисунок 9 – Относительные значения содержания химических элементов в сыворотке крови животных опытных групп по сравнению с контролем %

1 Примечание – Ось X (0) – уровень биохимических показателей в контрольной группе.

2 Примечание – a – ( $p \leq 0,05$ ); aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок; b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I; c – ( $p \leq 0,05$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

Выявленное в ходе анализа снижение уровней Ca, Mg, Fe и Cu обусловлено избыточным поступлением в организм животных функционального антагониста этих металлов – Mn. Всасывание данных элементов в ЖКТ осуществляется общими транспортными системами, и соответственно, пищевой статус Mn способен влиять на кинетику этих химических элементов (Gunter T.E. et al., 2013; Mercadante C.J. et al., 2016). Выявленная тенденция к повышению содержания I в сыворотке крови, возможно, обусловлена блокирующим действием ионов Mn на поглощение щитовидной железой I, что согласуется с исследованиями французских ученых Buthieau A.M. и Autissier N. (1977). Хорошо известно, что соединения Se оказывают антитоксическое действие при отравлении солями многих тяжелых металлов. Селенопротеины крови имеют большое сродство к тяжелым металлам, благодаря чему способны образовывать металлические комплексы и транспортировать их (Zwolak I., 2020). В исследовании китайских ученых было установлено, что воздействие металлов может влиять на уровень Se и распределение селенопротеинов в сыворотке крови дозозависимым образом (Tinggi U. and Perkins A.V., 2022). Данный факт обуславливает выявленную в работе тенденцию к повышению уровня Se в крови животных.

Похожие отклонения наблюдались и у половозрелых животных, подвергшихся в период пренатального развития воздействию Mn. Несмотря на то, что уровень Mn в сыворотке крови был незначительно выше контрольных значений (на 11 %,  $p=0,05$ ), было установлено нарушение баланса ряда элементов. Наиболее выраженные отклонения были выявлены для K, Fe и Zn, уровни которых были ниже контрольных значений на 30 ( $p=0,03$ ), 39 ( $p=0,002$ ) и 33 % ( $p=0,002$ ), менее выраженное для Mg – ниже на 18 % ( $p=0,05$ ), также отмечалась тенденция к снижению Ca и Cu.

У животных второго поколения было зафиксировано наименьшее число отклонений в содержании химических элементов в сыворотке крови. Установлено более низкое содержание Zn (ниже на 19 %,  $p=0,02$ ), тенденция к снижению Ca, P, Mg. Таким образом, Mn оказывает влияние на гомеостаз химических элементов в материнском организме, что отражается и на минеральном обмене потомства.

Повышенная чувствительность к токсичным факторам воздействия фило- и онтогенетически более молодых и высоко расположенных отделов мозга по сравнению с более древними и ниже расположенными является общей закономерностью для центральной нервной системы, в связи с чем был проанализирован элементный состав коры головного мозга (Аврущенко М.Ш. и др., 2009) (рисунок 10).

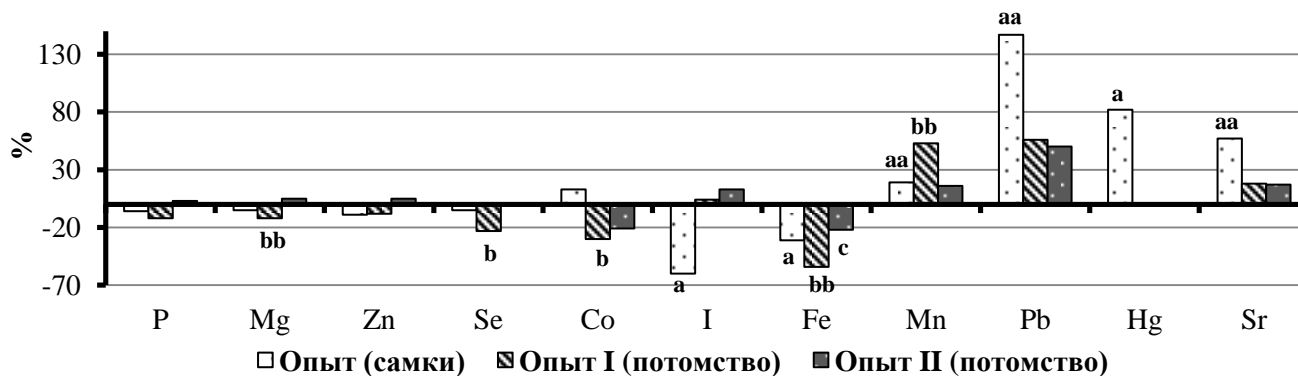


Рисунок 10 – Относительные значения содержания химических элементов в коре головного мозга животных опытных групп по сравнению с контролем

1 Примечание – Ось X (0) – уровень биохимических показателей в контрольной группе.

2 Примечание – aa – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок; b – ( $p \leq 0,05$ ); bb – ( $p \leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I; c – ( $p \leq 0,05$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства II.

Установлено, что в сером веществе животных опытной группы (самки) уровень Mn, Pb, Hg и Sr был выше контрольных значений на 19 ( $p=0,002$ ), 147 ( $p=0,002$ ), 82 ( $p=0,05$ ) и 57 % ( $p=0,003$ ), соответственно. На фоне этого содержание Fe и I было меньше, чем в контроле на 31 ( $p=0,05$ ) и 60 % ( $p=0,03$ ), соответственно.

Полученные результаты наглядно демонстрируют, что хроническое воздействие Mn изменяет гомеостаз Fe в системном кровообращении, снижая его содержание в сыворотке крови, а также и в головном мозге, что согласуется с рядом исследований (Li G.J. et al., 2006; Wang X. et al., 2008). С химической точки зрения, Mn и Fe расположены рядом друг с другом в периодической таблице, что позволяет им конкурировать за связывание с транспортными белками (Хомченко Г.П. и Цитович И.К., 1987; Liu Q. et al., 2021). Как правило, в железодефицитных областях головного мозга происходит усиленное накопление Mn, приводящее к активации окислительного стресса (Erikson K.M. et al., 2002; Peres T.V. et al., 2016). Вполне вероятно, что Mn-индуцированный окислительный стресс вызывает повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, приводящее к увеличению притока тяжелых металлов (Pb, Hg, Sr) (Блинов Д.В. 2013, 2014; Sharma A. et al., 2021). Сообщается, что повышение содержания уровней химических элементов происходит в областях мозга с высокой интенсивностью биохимических процессов и окислительной активностью (Осипова Е.В., 2005).

У животных опытной группы I (потомство) уровень Mn в коре головного мозга был выше контрольных значений на 53 % ( $p=0,002$ ), отмечалась выраженная тенденция к повышению содержания Pb и Sr. На фоне этого уровень Mg, Fe, Co и Se был ниже контроля

на 12 ( $p=0,01$ ), 54 ( $p=0,003$ ), 30 ( $p=0,02$ ) и 23 % ( $p=0,03$ ). Полученные результаты согласуются с работами Molina R.M. и соавторов (2011), Betharia S. и Maher T.J. (2012), Beasley T.E. и соавторов (2022). Совокупность данных свидетельствует о плацентарном переносе Mn от матери к плоду (Michaelis V. et al., 2022).

У животных опытной группы II (потомство) в коре головного мозга отмечался более низкий уровень Fe (ниже на 22 %,  $p=0,03$ ). На фоне этого уровень Ca, K, Mn имел тенденцию к увеличению.

Выявленный дисбаланс химических элементов дает основания предполагать, что воздействие Mn в относительно низких дозах в период физиологической беременности может повлечь за собой неблагоприятные последствия на гомеостаз химических элементов потомства. Дисбаланс макро- и микроэлементов в организме влияет на функционирование практически всех систем и органов, вызывая значительное напряжение адаптационных механизмов и изменение некоторых физиологических, функциональных и метаболических параметров в живом организме (Авцын и др., 1991).

Известно, что Mn химически достаточно активен, поэтому в организме он стабилизируется в комплексе с различными лигандами (Michalke et al., 2015). В связи с этим был проведен анализ химических форм Mn («Speciation analysis»). Установлено, что Mn сыворотки крови крыс линии Wistar связан с соединениями с высокой молекулярной массой (Mn-Tf/Alb, Mn-A2M) и с низкой молекулярной массой (Mn-LMM), а также представлен свободой формой (Mn-free).

Содержание абсолютных фракций Mn в сыворотке крови животных, подвергшихся пероральному воздействию, значительно отличалось от контрольной группы. Общее содержание Mn в сыворотке опытных животных (самки) превышало контроль в 1,7 раз ( $p=0,01$ ). Было обнаружено, что основное количество Mn было представлено неорганической формой (6,6 мкг/л), превышающее контрольные значения в 1,8 раз. Среди органических форм было зафиксировано, что содержание Mn-LMM и Mn-Tf/Alb было больше контроля в 4 раза ( $p=0,04$ ) и 1,9 раза ( $p=0,005$ ), соответственно. На фоне этого отмечалась тенденция к снижению содержания фракции Mn-A2M (рисунок 11).

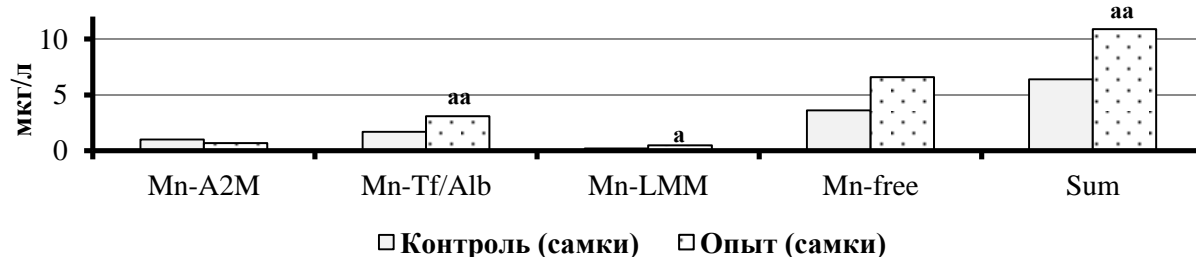


Рисунок 11 – Уровень марганцевых фракций в сыворотке крови животных опытной группы (самки), мкг/л

Примечание – a – ( $p\leq 0,5$ ); aa – ( $p\leq 0,01$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп самок.

У животных опытной группы I (потомство) установлено, что общее содержание Mn в сыворотке крови было достоверно чуть выше контрольных значений. Однако, несмотря на это, были выявлены изменения в содержании его металл-лигандных форм: уровень фракции Mn-Tf/Alb был больше, чем у животных контрольной группы в 1,2 ( $p=0,05$ ) раза; отмечалась тенденция к увеличению содержания Mn-LMM; фиксировалась тенденция к снижению содержания высокомолекулярных фракций Mn-A2M (рисунок 12). У животных опытной

группы второго поколения не было выявлено явных отличий в содержании марганцевых форм относительно соответствующего контроля.

Полученные результаты наглядно демонстрируют, что длительное воздействие субтоксических доз Mn может привести к смещению его металл-лигандных форм в сторону низкомолекулярных соединений, а также неорганической фракции, что может быть связано с перегрузкой других транспортных молекул.

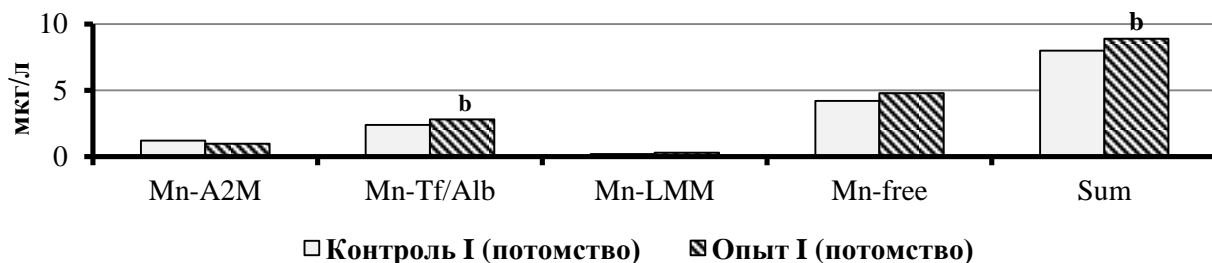


Рисунок 12 – Уровень марганцевых фракций в сыворотке крови животных первого поколения, мкг/л

Примечание – b – ( $p \leq 0,05$ ) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп потомства I.

Согласно анализу корреляционной матрицы, было выявлено, что уровень общего Mn в крови животных положительно коррелировал с такими фракциями, как Mn-free ( $r=0,5$ ;  $p=0,006$ ), Mn-Tf/Alb ( $r=0,5$ ;  $p=0,001$ ) и Mn-LMM ( $r=0,5$ ;  $p=0,005$ ), фиксировалась отрицательная ассоциация с Mn-A2M ( $r=-0,35$ ;  $p=0,02$ ). Из корреляционной матрицы видно, что повышение валового содержания Mn в сыворотке крови крыс (выше 12 мкг/л) приводит к перегрузке основных высокомолекулярных носителей и инициирует еще большее образование низкомолекулярных форм Mn (рисунок 13А). Образование низкомолекулярных носителей Mn в организме на фоне повышенного воздействия данного металла обсуждается учеными уже несколько лет (Michalke B. et al., 2013, 2015; Neth K. et al., 2015).

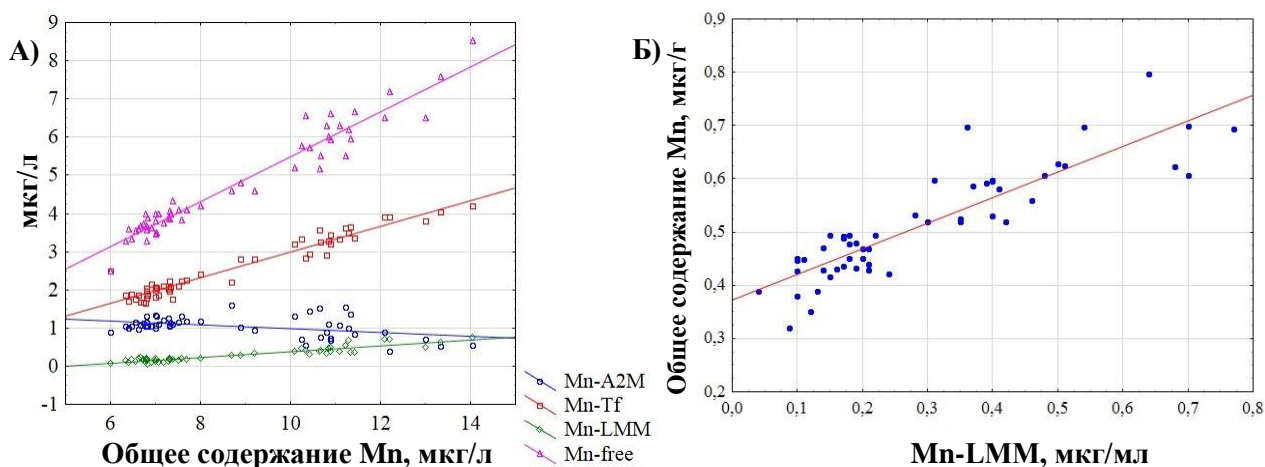


Рисунок 13 – Графики корреляционных зависимостей:

- А) между общим содержанием марганца в сыворотке крови и его металл-лигандными формами;
- Б) между уровнем низкомолекулярных форм марганца в сыворотке крови и его валовым содержанием в коре головного мозга

Предполагается, что именно Mn-LMM способны преодолевать гематоэнцефалический барьер и накапливаться в мозге, вызывая нейротоксический эффект. С целью проверки данной гипотезы был проведен корреляционный анализ между содержанием в сыворотке

крови Mn-LMM и его валовым содержанием в коре головного мозга. Из рисунка наглядно видно, что увеличение содержания Mn-LMM форм в крови сопровождается достоверным повышением общего уровня Mn в головном мозге ( $r=0,64$ ;  $p\leq 0,05$ ) (рисунок 13Б).

Полученные результаты подтверждаются перфузионным исследованием Yokel R.A. и Crossgrove J.S. (2004), в ходе которого авторы обнаружили более высокий коэффициент притока из крови в мозг Mn-LMM по сравнению с Mn-free и Mn-Tf комплексами. Полученные результаты указывают на то, что Mn-LMM проникают через гематоэнцефалический барьер более активно и накапливаются в мозге.

Учитывая, что большинство макро- и микроэлементов являются неотъемлемой частью различных ферментных систем, интерес представляют данные о возможной взаимосвязи между показателями элементного статуса животных с гематологическими и биохимическими параметрами крови (рисунок 14).

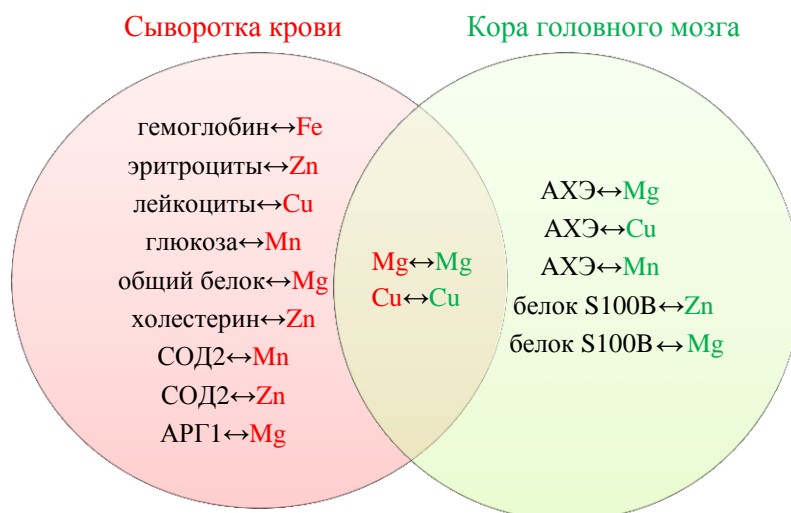


Рисунок 14 – Общие корреляционные взаимосвязи между показателями элементного статуса животных опытных групп и биохимическими, гематологическими параметрами крови,  $r\geq 0,3$  при  $p\leq 0,05$

Примечание – Красным цветом выделены химические элементы сыворотки крови, зеленым цветом выделены химические элементы коры головного мозга.

Достоверные положительные корреляции ( $r\geq 0,3$  при  $p\leq 0,05$ ) между сывороточным Fe и гемоглобином, Zn и эритроцитами, Cu и лейкоцитами, выявленные во всех опытных группах, указывают на ключевую роль данных микроэлементов в кроветворении. Обращает на себя внимание факт, что у животных опытной группы (самки) на фоне перорального воздействия Mn отмечались более низкие уровни Fe, Zn и Cu в сыворотке крови, что сопровождалось снижением уровня гемоглобина, лейкоцитов и нейтрофилов. Таким образом, нарушение гомеостаза химических элементов может оказать негативное влияние на процессы дифференцировки, пролиферации и функционирование клеток крови, что согласуется с рядом исследований (Потемина Т.Е. и др., 2020; Chen Y.H. et al., 2017; Oliveira D.C. et al., 2018).

Из представленного рисунка также видно, что вне зависимости от способа воздействия Mn, во всех опытных группах был обнаружен ряд статистически значимых ассоциаций между химическими элементами сыворотки крови, коры головного мозга и биохимическими показателями. Установленные корреляционные зависимости между сывороточным уровнем Mn и глюкозой, Mg и общим белком, Zn и холестерином наглядно демонстрируют значимость влияния данных микроэлементов на углеводный, белковый и липидный обмены. Известно, что для каталитического действия пируваткарбоксилазы,

металлофермента контролирующего уровень глюкозы, необходимы ионы Mn (Hidalgo et al., 2021). Mg играет значимую физиологическую роль в организме за счет участия в различных ферментативных реакциях, включая активацию аминокислот и синтез белков, тем самым влияя на белковый обмен (Радыш И.В. и др., 2017; Оберлис Д. и др., 2018; Ayuk J. and Gittoes N.J., 2014). Zn принимает участие в катаболических процессах – входит в состав антиоксидантного фермента цинк-зависимой супероксиддисмутазы, тем самым повышает уровень энергетического обмена и интенсивность распада жиров, что обуславливает его роль в регуляции жирового обмена (Чегус Л.А. и др., 2018). Такие элементы как Mg, Mn и Zn находятся в структуре многих ферментов в связи с чем, возможно, и обосновывается их корреляционные зависимости с аргиназой и супероксиддисмутазой (Тармаева И.Ю. и Боева А.В., 2014).

Выявленные связи между АХЭ и Mg, Cu, Mn коры головного мозга, возможно, обусловлены тем, что двухвалентные катионы металлов могут выступать в качестве активаторов и ингибиторов данного фермента (Tomlinson G. et al., 1981). Помимо кальций-связывающего сайта белок S100B имеет регуляторные специфические сайты связывания Zn и Cu, что приводит к перераспределению внутриклеточного пула данных микроэлементов (Hagmeier S. et al., 2018). Следует отметить, что в опытных группах отмечалось нарушение баланса вышеперечисленных биоэлементов в сыворотке крови и коре головного мозга.

С точки зрения диагностики особый интерес представляет выявление возможных взаимосвязей между химическими элементами сыворотки крови и коры головного мозга, так как последние не имеют эквивалентных измерений *in vivo*. Установлено, что во всех опытных группах отмечалась достаточно сильная степень положительной корреляционной связи между сывороточным уровнем Mg, Cu и содержанием данных элементов в коре головного мозга. В отношении других элементов такой четкой зависимости выявлено не было, что, вероятно, обусловлено влиянием гомеостатических механизмов на состав сыворотки крови. Таким образом, нарушение баланса сывороточных уровней Mg и Cu может служить прогностическим признаком нарушения гомеостаза данных элементов в головном мозге (Костина О.В. и др., 2020; Bisaglia M. and Bubacco L., 2020; Gromadzka G. et al., 2020; Du K. et al., 2022;).

При пероральном воздействии Mn было выявлено наибольшее количество корреляционных зависимостей значительной силы ( $r \geq 0,7$ ) между исследуемыми показателями, в то время как в опытной группе I (потомство) и опытной группе II (потомство) было зафиксировано меньшее количество ассоциаций умеренной силы ( $r \geq 0,3$ ). Выявленные корреляции между различными химическими элементами сыворотки крови/коры головного мозга и морфобиохимическими показателями отражают сложную систему биохимических реакций и могут быть сопутствующим явлением.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенного исследования и анализ научной литературы позволили изучить закономерности формирования элементного гомеостаза и поведенческих реакций у потомства, подвергшегося в период пренатального развития стрессорному воздействию Mn. Показано, что хронический стресс, обусловленный воздействием Mn в период физиологической беременности, приводит к задержке физического развития, устойчивым нарушениям двигательного, эмоционального и исследовательского компонентов поведения, формирования памяти и способности к обучению в ближайшем и в последующем поколении потомства. Выявленные изменения в поведенческом и когнитивном контуре

сопровожаются широким спектром нарушений обмена веществ, среди которых ключевое место занимает изменение метаболизма макро- и микроэлементов.

Полученные результаты исследования углубляют и расширяют представления о влиянии хронического стресса, обусловленного воздействием Мп в течение физиологической беременности, на становление функциональных систем организма двух поколений.

Результаты исследования способствуют пониманию закономерностей и механизмов поддержания элементного гомеостаза в процессе адаптации к факторам внешней среды, представляют интерес с позиции охраны здоровья матери и ребенка, а также механизмов формирования патофизиологических состояний.

Критический анализ полученных результатов позволил прийти нам к следующим **выводам.**

## **ВЫВОДЫ**

1. При стресс-потенцирующем воздействии Мп на самок крыс в прегестационный период развивается общая неспецифическая адаптационная реакция повышенной активации у 33 % животных, что свидетельствует о напряжении механизмов адаптации; отмечается ухудшение репродуктивного потенциала, что выражается снижением индекса продуктивности на 20 %, индекса беременности на 11,5 %, наступлением более ранней родовой деятельности на 1,6 дней.

2. Хроническое субтоксическое воздействие Мп на самок крыс в пре- и гестационный периоды приводит к нарушению морфогенеза и формированию дисфункциональных отклонений в физическом развитии потомства первого поколения, что выражается ухудшением веса-ростовых показателей животных – отмечается малый размер тела крысят и низкий вес при рождении (на 20 %), который сохраняется в ходе всего онтогенеза, выявлены более поздние сроки открытия глаз (на 2,5 суток) в сочетании с развитием гиперактивного поведения, ухудшением пространственной ориентации и способности к обучению в половозрелом возрасте; тогда как у потомства второго поколения регистрируется задержка роста крысят на ранних этапах постнатального развития (1-3 неделя), которая нивелируется по мере взросления, в совокупности с ухудшением пространственной памяти в половозрелом возрасте.

3. При хроническом субтоксическом воздействии Мп на самок крыс в пре- и гестационный периоды отмечается нарушение метаболического гомеостаза в материнском организме, что сопровождается увеличением уровня глюкозы на 80 %, холестерина на 11 % и триглицеридов на 72 % на фоне снижения уровня общего белка на 37 % и альбумина на 21 %; в организме половозрелого потомства первой линии отмечается повышение уровня холестерина на 73 %, триглицеридов на 85 % и снижение уровня общего белка на 18 %; у животных второй линии исключением является холестерин, уровень которого превышает контроль на 38 %.

4. В условиях хронического стресс-воздействия Мп на самок крыс в пре- и гестационный периоды выявлены закономерности формирования элементного статуса: в сыворотке крови материнского организма отмечается высокий уровень Мп на фоне более низкого содержания Ca, K, Mg, Cu и Fe, в коре головного мозга отмечается накопление тяжелых металлов Mn, Pb, Hg и Sr на фоне снижения уровня Fe и I; у животных первого поколения в сыворотке крови установлен более низкий уровень K, Mg, Fe и Zn, в коре головного мозга – Mg, Fe, Se и Co на фоне повышенного содержания Mn. Данные изменения сопровождаются адаптационно-компенсаторной активацией ферментных систем, что

выражается повышением сывороточного уровня марганецсодержащих ферментов – супероксиддисмутаза на 133 % и аргиназы на 183 % у самок крыс; уровня аргиназы на 28 % у животных первого поколения.

5. В условиях стресс-потенцирующего воздействия Mn на самок крыс в пре- и гестационном периодах установлены закономерности распределения металл-лигандных форм данного химического элемента в сыворотке крови животных: отмечается снижение адаптационно-функциональных резервов материнского организма и потомства первой линии за счет повышенного образования низкомолекулярной фракции Mn, способствующей избыточному накоплению тяжелого металла в головном мозге, на фоне чего Mn оказывает нейротоксическое действие, что сопровождается увеличением содержания белка S100B в сыворотке крови самок крыс на 84 %, а также выражается дисфункциональными отклонениями деятельности холинергической системы, характеризующиеся повышением уровня ацетилхолинэстеразы в крови животных первого поколения на 47 %.

6. Наиболее выраженная внутри- и межсистемная интеграция показателей элементного статуса, функционального состояния метаболической системы и ферментативной подсистемы отмечается в организме самок крыс в условиях повышенного перорального поступления Mn в прегестационный период. Независимо от группы наблюдения, выявлены интегральные взаимосвязи между сывороточным уровнем Mg и общим белком, аргиназой; Fe и гемоглобином; Zn и эритроцитами, холестерином, супероксиддисмутазой; Cu и лейкоцитами; Mn и глюкозой, супероксиддисмутазой; уровнем химических элементов в коре головного мозга Mg, Cu, Mn и ацетилхолинэстеразой; Mg, Zn и белком S100B; сывороточным уровнем Mg/Cu и содержанием данных элементов в коре головного мозга, что в совокупности свидетельствует о напряжении в работе регуляторных адаптационных механизмов.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Женщинам фертильного возраста, проживающих в районах с высокой экологической нагрузкой, в период прекоцепции, а также беременным женщинам в период органогенеза у плода, характеризующегося высокой дифференцировкой тканей и формированием органов, включая закладку нервной трубки с последующим развитием головного мозга, и в период системогенеза, характеризующегося формированием высшей структуры центральной нервной системы, рекомендуется проведение многоэлементного анализа сыворотки крови для определения элементного статуса женского организма и своевременной профилактики и коррекции дисэлементозов с целью сохранения репродуктивного здоровья женщин, снижения частоты и тяжести развития гестационных осложнений, формирования психомоторных и соматических расстройств у новорожденных и взрослого потомства.

2. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать проводить оценку сывороточного уровня низкомолекулярной фракции марганца в условиях стресс-потенцирующего антропогенного загрязнения среды обитания в качестве предиктора накопления Mn в головном мозге, и как следствие, развития марганец-зависимых неврологических расстройств.

3. Разработанная модель энцефалопатии у потомства, обусловленная воздействием субтоксичных доз Mn на материнский организм в период физиологической беременности, может быть использована для экспериментального изучения механизмов, способствующих развитию адаптивных и дезадаптивных фенотипов потомства.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Приведенные данные указывают на высокую актуальность и научно-практическую значимость дальнейшего исследования механизмов, лежащих в основе реализации адаптационно-компенсаторных процессов в женском организме и потомстве в условиях повышенного антропогенного воздействия Mn. Особое значение приобретает изучение эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов, включая специфические модификации ДНК и гистонов, в реакции на хроническое стрессорное воздействие Mn в период физиологической беременности.

Выявленные нарушения метаболического и элементного гомеостаза, поведенческих и когнитивных способностей у половозрелого потомства, подвергавшегося в период пренатального развития стрессорному воздействию Mn, свидетельствуют о необходимости поиска способов пре- и постнатальной диагностики, коррекции негативных последствий воздействия.

Полученные данные могут быть перспективны в плане разработки нового персонализированного подхода по эффективному и безопасному назначению марганецсодержащих биологически активных добавок к пище на основе оценки валового содержания Mn и его отдельных химических форм в сыворотке крови.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

#### Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Казакова, Т.В.** Состояние элементного гомеостаза на фоне субхронического воздействия марганца (экспериментальное исследование) / Т.В. Казакова, О.В. Маршинская, С.В. Нотова // Вестник Тверского государственного университета. Серия биология и экология. – 2023. – Т. 4. – № 72. – С. 56-66.
2. **Казакова, Т.В.** Оценка воздействия марганца на адаптационные реакции крыс линии Wistar / Т.В. Казакова, Е.А. Сизова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – № 12 (138). – С. 1-5.
3. **Казакова, Т.В.** Элементный профиль организма на фоне пренатального воздействия марганца / Т.В. Казакова // Микроэлементы в медицине. – 2022. – Т. 23. – № 4. – С.70-79.
4. Нотова, С.В. Пренатальное влияние марганца на уровень сывороточной ацетилхолинэстеразы у крыс / С.В. Нотова, И.Ф. Каримов, **Т.В. Казакова**, О.В. Маршинская // Журнал медико-биологических исследований. – 2021. – Т. 9. – № 2. – С. 163-170.

#### Статьи в журналах, индексируемые в Scopus и WoS:

5. **Казакова, Т.В.** Влияние субхронического воздействия марганца на минеральный обмен крыс линии Wistar / Т.В. Казакова, О.В. Маршинская, С.В. Нотова // Acta biomedica scientifica. – 2024. – Т. 9. – № 1. – С. 241-248.
6. **Kazakova, T.V.** Assessment of the prenatal impact of manganese on behavioral responses and level of acetylcholinesterase in laboratory animals / T.V. Kazakova, O.V. Marshinskaya, S.V. Notova // AIP Conference Proceedings. – 2022. – V.2467. – № 1. – P. 070010.
7. Notova, S.V. Metal-ligand forms of iron and zinc in the human body / S.V. Notova, **T.V. Kazakova**, O.V. Marshinskaya, O.V. Shoshina // Kazan Medical Journal. – 2022. – V. 103. – № 2. – P. 259-268.

8. **Kazakova, T.V.** Efficiency and safety of heavy metals in animal nutrition / T.V. Kazakova, O.V. Marshinskaia, S.V. Notova // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – V. 624. – № 1. – P. 012185.

9. Notova, S.V. Study of the influence of anthropogenic factors on organism / S.V. Notova, **T.V. Kazakova**, O.V. Marshinskaia, E.V. Kiyayeva, E.V. Sheida // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – V. 624. – № 1. – P. 012187.

10. **Kazakova, T.V.** Potential new biomarkers for assessing the effects of manganese on the body // T.V. Kazakova, O.V. Marshinskaia, S.V. Notova, E.V. Sheida / FEBS Open Bio. – 2021. – V. 11. – P. 330.

#### **Патенты:**

11. Способ моделирования энцефалопатии у потомства при воздействии нетоксичных доз марганца в пренатальный период: патент 2794816 Российская Федерация / С.В. Нотова, **Т.В. Казакова**, О.В. Маршинская. – № 2022123583; заявл. 05.09.2022; опубл. 25.04.2023, Бюл. 12, 2023. – 1 с.

#### **Материалы конференций:**

12. **Казакова, Т.В.** Адаптационные реакции организма на фоне субхронического воздействия марганца / Т.В. Казакова // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Агаджаньяновские чтения». – 2023. – С. 167-170.

13. **Казакова, Т.В.** Пренатальное воздействие марганца на морфофункциональные показатели потомства / Т.В. Казакова, О.В. Маршинская // Материалы XXII съезда Физиологического общества имени И. П. Павлова. – 2023. – С. 356.

14. **Казакова, Т.В.** Оценка пренатального воздействия марганца на поведенческие параметры и элементный статус организма в эксперименте / Т.В. Казакова, С.В. Нотова // Материалы XIX симпозиума с международным участием «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – 2022. – С. 94-95.

15. **Казакова, Т.В.** Оценка показателей крови при воздействии марганца на организм в период внутриутробного развития / **Т.В. Казакова**, О.В. Маршинская, С.В. Нотова // Материалы конференции «III Объединенный Научный Форум Физиологов, Биохимиков и Молекулярных биологов, VII Съезд Физиологов СНГ, VII Съезд Биохимиков России, X Российский Симпозиум «Белки И Пептиды»». – 2021. – С. 103.

16. **Kazakova, T.V.** The effect of oral manganese exposure on the level of divalent metals in the blood serum of laboratory animals / T.V. Kazakova, O.V. Marshinskaia, S.V. Notova // Trace Elements and Electrolytes. – 2021. – V. 38. – № 3. – P. 143.

17. **Казакова, Т.В.** Пренатальное воздействие марганца на психофизиологические показатели потомства (пилотное исследование) / Т.В. Казакова, О.В. Маршинская, С.В. Нотова // Материалы III Всероссийской научно-практической конференции «Физиология человека». – 2020. – С. 90-95.

18. **Казакова, Т.В.** Влияние марганца на когнитивные функции организма / Т.В. Казакова, О.В. Маршинская, К.П. Мирошникова // Материалы Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 95-летию Института физиологии им. И.П. Павлова. – 2020. – С. 143-144.

19. Шабанова, О.С. Влияние перорального введения свинца на психофизиологическое состояние лабораторных животных / О.С. Шабанова, О.В. Маршинская, **Т.В. Казакова** // Фундаментальные основы технологического развития сельского хозяйства: материалы российской научно-практической конференции с международным участием. – 2019. – С. 381.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

F <sub>0♀</sub> – самки крыс	КР – креатинин
F <sub>1</sub> – животные первого поколения	Обл – общий билирубин
F <sub>2</sub> – животные второго поколения	ХЛ – холестерин
ЛД <sub>50</sub> – полуметальная, или средняя смертельная доза	ТГ – триглицериды
ИП – индекс плодовитости	МОЧ – мочевины
ИБ – индекс беременности	АРГ1 – аргиназа
МК – массовый коэффициент	СОД2 – супероксиддисмутаза
РТ – реакция тренировки	АХЭ – ацетилхолинэстераза
Q <sub>75</sub> контроля – показатели на уровне 75 центиля у животных контрольной группы	Mn-A2M – фракция марганца, связанная с α2-макроглобулином
Q <sub>25</sub> контроля – показатели на уровне 25 центиля у животных контрольной группы	Mn-Tf/Alb – фракция марганца, связанная с трансферрином/альбумином
ГЛ – глюкоза	Mn-LMM – фракция марганца, связанная с низкомолекулярными соединениями
ОБ – общий белок	Mn-free – неорганический марганец
АЛБ – альбумины	