

УДК 612.128

DOI: 10.37482/2687-1491-Z054

ПРЕНАТАЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ МАРГАНЦА НА УРОВЕНЬ СЫВОРОТОЧНОЙ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ У КРЫС¹

*С.В. Нотова**/** ORCID: [0000-0002-6378-4522](https://orcid.org/0000-0002-6378-4522)

*И.Ф. Каримов***/** ORCID: [0000-0001-6853-4242](https://orcid.org/0000-0001-6853-4242)

*Т.В. Казакова**/** ORCID: [0000-0003-3717-4533](https://orcid.org/0000-0003-3717-4533)

*О.В. Маршинская**/** ORCID: [0000-0002-5611-5128](https://orcid.org/0000-0002-5611-5128)

*Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук
(г. Оренбург)

**Оренбургский государственный университет
(г. Оренбург)

***Оренбургский государственный медицинский университет
(г. Оренбург)

Пренатальный период имеет решающее значение для развития нервной системы. Несмотря на то, что марганец является эссенциальным элементом, его избыточное воздействие может приводить к негативным постнатальным последствиям. Изучено пренатальное влияние сульфата марганца на концентрацию ацетилхолинэстеразы в организме крыс в двух поколениях. С этой целью самки крыс линии Wistar в течение 28 дней до гестации и в период гестации (20–26 дней) в дополнение к основному рациону получали сульфат марганца в суточной дозе 1433 мг/кг. Молодое потомство первого поколения тестировалось на выявление поведенческих расстройств с помощью стандартизированных поведенческих тестов, по результатам тестов были отобраны самцы с наибольшими отклонениями. Самок из первого поколения в дальнейшем использовали для получения второго потомства, из которого также были отобраны самцы с поведенческими нарушениями. По достижении 18-недельного возраста у отобранных животных осуществлялся забор крови для определения уровня ацетилхолинэстеразы. Также оценивалось влияние перорального воздействия марганца на организм самок-матерей. Исследование установило, что в сыворотке крови самок крыс, подвергавшихся непосредственному воздействию сульфата марганца, наблюдалась тенденция к более высоким уровням ацетилхолинэстеразы. Статистически значимые изменения уровня данного фермента отмечались у животных первого поколения: значение первого квартиля у них было на 22 % больше значения третьего квартиля группы, которая не подвергалась пренатальному воздействию ($p = 0,012$). У животных второго поколения прослеживалась тенденция к более высокой концентрации ацетилхолинэстеразы в крови относительно интактных животных. Таким образом, исследование продемонстрировало, что сульфат марганца в пренатальный период оказывает влияние на концентрацию ацетилхолинэстеразы не только в материнском организме, но и у потомства в нескольких поколениях.

Ключевые слова: пренатальное воздействие, тяжелые металлы, марганец, нейротоксический эффект, ацетилхолинэстераза, биомаркеры нейротоксичности.

¹Исследования выполнены в соответствии с планом НИР на 2019–2021 годы ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (№ 0526-2019-0001).

Ответственный за переписку: Казакова Татьяна Витальевна, адрес: 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, д. 29; e-mail: vaisvais13@mail.ru

Для цитирования: Нотова С.В., Каримов И.Ф., Казакова Т.В., Маршинская О.В. Пренатальное влияние марганца на уровень сывороточной ацетилхолинэстеразы у крыс // Журн. мед.-биол. исследований. 2021. Т. 9, № 2. С. 163–170. DOI: 10.37482/2687-1491-Z054

Марганец является эссенциальным микроэлементом, который играет важную роль в регуляции многих физиологических процессов в организме животных и человека, в связи с чем он необходим для правильного развития и роста плода, а также дальнейшего развития организма на всех этапах жизни [1]. Данный элемент принимает участие в белковом и энергетическом метаболизме, поддержании уровня глюкозы и витаминов в крови, антиоксидантной защите клеток, минерализации костной ткани, свертывании крови и гемостазе. Такой широкий спектр функций данного микроэлемента связан с работой марганцесодержащих металлоферментов (супероксиддисмутаза, аргиназа) и ферментов, для которых он выступает в качестве кофактора (гидролазы, киназы, декрбоксилазы, трансферазы) [2].

Несмотря на свою эссенциальную роль, марганец обладает нейротоксическим эффектом. Впервые это было обнаружено среди шахтеров, сварщиков и людей, работающих на сталелитейном, электрическом, керамическом, стекольном производстве, подвергающихся ингаляционному воздействию марганца в связи с использованием данного металла в производственных циклах. Согласно данным американских ученых, у сварщиков, испытывающих воздействие марганца (при средней концентрации в воздухе 110 мкг/м³), наблюдалось снижение когнитивных способностей и памяти [3]. В проведенных исследованиях на грызунах, приматах и человеке было обнаружено, что марганец способен преодолевать гематоэнцефалический и гематоликворный барьеры, избирательно накапливаясь в различных областях мозга – в базальных ганглиях, особенно в бледном шаре, полосатом теле, черной субстанции, а также в гиппокампе и коре [4]. Было показано, что высокое содержание марганца в нейронах инициирует окислительный стресс, нарушает нормальное функционирование митохондрий, приводит к повреждению ДНК и апоптозу [5]. Сообщается [6], что марганец влияет на транспорт нейромедиаторов и функционирование рецепторных белков дофамина, глутамата и γ -аминомасляной кисло-

ты, что приводит к изменениям уровня нейротрансмиттеров, нарушению передачи нервного сигнала, а также запуску эксайтотоксичного процесса. Необходимо добавить, что риск для здоровья не ограничивается только профессиональным воздействием марганца. Воздух, вода или продукты питания с высоким содержанием данного элемента являются источниками воздействия на население в целом [6].

Следует отметить, что большинство исследований сосредоточены на изучении непосредственного влияния марганца на взрослый организм – на людей, которые подвергались профессиональному воздействию данного металла. При этом работы по изучению внутриутробного воздействия марганца и состояния нервной системы организма в таких условиях встречаются гораздо реже.

Пренатальный период имеет решающее значение для развития нервной системы организма, т. к. в это время происходит интенсивное физиологическое развитие головного мозга, формирование когнитивных, двигательных и речевых функций. На данном этапе мозг особо чувствителен к воздействию различных токсикантов, в т. ч. и марганца. Сообщается, что во время беременности уровень марганца в материнской крови повышается, причем наиболее высокое его содержание отмечается в пуповинной крови, что свидетельствует о повышенной биологической потребности в данном элементе [7]. Однако избыточное воздействие марганца может привести к негативным постнатальным последствиям. В последнее десятилетие отмечается ухудшение показателей физического развития среди детского населения: возрастает число новорожденных и детей с пониженной массой тела, а также увеличивается частота встречаемости морфофункциональных отклонений и хронических заболеваний со стороны центральной нервной, сердечно-сосудистой, костно-мышечной, эндокринной и пищеварительной систем и пр. [8]. В связи с этим необходимо выделить маркеры, которые могут оказаться полезным инструментом для прогнозирования и предотвращения токсического воздействия марганца еще на обратимых

стадиях, до начала патологических изменений в организме.

Активность фермента ацетилхолинэстеразы все чаще используется в качестве биомаркера воздействия различных токсикантов на нервную систему [9]. В научной литературе нами не найдено исследований, в которых оценивалось бы пренатальное воздействие марганца на концентрацию специфических токсических маркеров в организме потомства в двух поколениях. По этой причине целью исследования явилось изучение пренатального влияния сульфата марганца на концентрацию ацетилхолинэстеразы в крови крыс.

Материалы и методы. Исследование проводили в условиях экспериментально-биологической клиники Федерального научного центра биологических систем и агротехнологий РАН (г. Оренбург) на крысах линии Wistar ($n = 50$) в соответствии с протоколами Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals» и принципами надлежащей лабораторной практики (ГОСТ Р 53434–2009), а также согласно рекомендациям «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (Washington: National Academy Press, 1996). Животных содержали при температуре 22 ± 1 °C в пластиковых клетках с подстилкой из древесных опилок в условиях искусственного освещения (12-часовой световой день) и приточно-вытяжной вентиляции. Кормление животных осуществляли один раз в сутки, был обеспечен свободный доступ к воде и пище. Животные находились на основном рационе (ОР), который был сформирован по рекомендациям Института питания РАМН.

Эксперимент по изучению уровня ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови лабораторных животных, подвергшихся воздействию сульфата марганца, состоял из двух этапов.

Первый этап исследования был выполнен на самках крыс половозрелого возраста (12 недель) массой 200 ± 10 г ($n = 20$). Крысы опытной группы ($n = 10$) в течение 28 дней до гестации и в период гестации (20–26 дней) получали в дополнение к основному рациону (ОР) сульфат

марганца ($MnSO_4$) в суточной дозе 1433 мг/кг, что составляет $2/3$ от полудетальной дозы – ЛД50 (данная дозировка меньше ЛД50, но больше суточной потребности). Самки контрольной группы ($n = 10$) находились на ОР. По прошествии 28 дней часть животных опытной и контрольной групп ($n = 10$) отбирали для проведения поведенческих тестирований («Открытое поле», «Черно-белая камера», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Тест Морриса»), после чего у них проводили забор крови из сердечной артерии в пробирки VACUETTE (Greiner Bio-One, Австрия) с активатором свертывания крови с целью определения уровня ацетилхолинэстеразы. Оставшуюся часть животных опытной и контрольной групп ($n = 10$) использовали для получения потомства.

На втором этапе исследования было получено первое потомство, из которого отбирали крысят-самцов с наибольшими поведенческими отклонениями – опытная группа I ($n = 10$). Отбор животных проводили по результатам поведенческого тестирования. Самок-крысят в дальнейшем использовали для получения второго потомства, из которого также были отобраны самцы с поведенческими нарушениями – опытная группа II ($n = 10$). В контрольную группу I были включены крысы-самцы, которые не подвергались пренатальному воздействию сульфата марганца ($n = 10$). На данном этапе эксперимента все животные находились на ОР.

По достижении 18-недельного возраста у исследуемых животных с наибольшими отклонениями (опытная группа I и II) осуществляли забор крови из сердечной артерии для определения уровня ацетилхолинэстеразы. Концентрацию ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови определяли с помощью иммуноферментного анализа на приборах «Проплан» и «Униплан» (ЗАО «Пикон», Россия) с использованием набора Rat AChE (Acetylcholinesterase) ELISA Kit (Elabscience, США). Этапы иммуноферментного анализа соответствовали инструкциям к наборам.

Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с применением статистического пакета

STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Хранение результатов исследования и первичную обработку материала осуществляли в оригинальной базе данных Excel 2010 (Microsoft, США). Гипотеза о принадлежности данных нормальному распределению была отклонена во всех случаях с вероятностью 95 %, что обосновало применение непараметрического *U*-критерия Манна–Уитни. Полученные данные представлены в виде медианы (*Me*) и 25-75-го квартилей (Q_{25} - Q_{75}). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (*p*), при этом критическим уровнем значимости принимали $p \leq 0,05$.

Результаты. Все лабораторные животные выжили к концу эксперимента и не показали явных признаков патологии или аномального поведения (отказ от пищи или воды).

Анализ содержания ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови крыс представлен в *таблице*.

первого поколения (опытная группа I) после пренатального воздействия сульфата марганца. При анализе уровня ацетилхолинэстеразы в крови потомства было отмечено, что Q_{25} опытной группы I был больше Q_{75} контрольной группы I на 22 % ($p = 0,012$). Также сравнение показателей потомства с данными самок-матерей выявило статистически значимо более высокую концентрацию изучаемого фермента у животных первого поколения – Q_{25} опытной группы I был больше Q_{75} опытной группы самок на 7,3 % ($p = 0,012$). При сравнении результатов анализа животных первого и второго поколений отмечено, что Q_{25} опытной группы I больше Q_{75} опытной группы II на 18,3 % ($p = 0,012$).

У животных второго поколения прослеживалась тенденция к более высокой концентрации ацетилхолинэстеразы относительно потомков интактных крыс – Q_{25} в опытной группе II был больше на 86 %, чем Q_{25} контрольной группы I.

**СРАВНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ (АЧЕ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ГРУПП КРЫС
COMPARISON OF SERUM LEVELS OF ACETYLCHOLINESTERASE IN EXPERIMENTAL GROUPS OF RATS**

Группа	АЧЕ, <i>Me</i> (Q_{25} - Q_{75}), нг/мл	$P_{Кс}$	$P_{КпI}$	$P_{ОпI}$	$P_{ОпII}$
Контроль (самки)	0,524 (0,369-0,792)	–	0,834	0,021	0,676
Контроль I (потомство)	0,575 (0,348-0,672)	0,834	–	0,012	0,403
Опыт (самки)	0,721 (0,656-0,765)	0,676	0,143	0,012	0,296
Опыт I (потомство 1-го поколения)	0,843 (0,821-0,877)	0,021	0,012	–	0,012
Опыт II (потомство 2-го поколения)	0,65 (0,647-0,694)	0,676	0,403	0,012	–

Примечание. Уровень статистической значимости отличий: $p_{Кс}$ – от контрольной группы самок; $p_{КпI}$ – от контрольной группы потомства I; $p_{ОпI}$ – от опытной группы потомства I; $p_{ОпII}$ – от опытной группы потомства II.

У самок-крыс, подвергавшихся прегестационному и гестационному воздействию сульфата марганца, наблюдалась тенденция к более высоким уровням ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови. Так, при сравнении результатов было отмечено, что Q_{25} опытной группы самок был на 78 % больше, чем Q_{25} контрольной группы.

Статистически значимые изменения уровня ацетилхолинэстеразы наблюдались у животных

Однако уровень данного фермента в опытной группе II был ниже, чем в опытной группе самок, – Q_{75} меньше Q_{75} на 9,3 % соответственно.

Обсуждение. Проблема загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами в настоящее время приобретает все большую актуальность в связи с негативными последствиями их влияния на здоровье людей. Данное обстоятельство представляет особую опасность для

детского населения: установлено, что чувствительность организма к воздействию токсикантов намного выше на ранних этапах пренатального и постнатального онтогенеза [10].

Полученные нами результаты демонстрируют статистически значимое увеличение концентрации ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови крыс первого поколения, которые подвергались пренатальному воздействию марганца. Во втором поколении прослеживалась тенденция к более высокому содержанию данного фермента, однако данные были близки к контрольным значениям. Помимо этого, изменения наблюдались и в показателях материнского организма. Следует отметить, что ацетилхолинэстераза (КФ 3.1.1.7) является гидролитическим ферментом семейства эстераз, участвует в прекращении передачи нервного импульса за счет гидролиза нейромедиатора ацетилхолина в многочисленных холинергических путях центральной и периферической нервной системы. Нарушение функционирования холинергических нейронов и холинергической системы тесно связано с когнитивными нарушениями. Например, инактивация ацетилхолинэстеразы, индуцированная различными ингибиторами, приводит к накоплению ацетилхолина, гиперстимуляции никотиновых и мускариновых рецепторов и нарушению передачи нервного импульса [11].

Таким образом, проведенное исследование показало, что пренатальное воздействие сульфата марганца изменяет концентрацию ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови лабораторных животных в нескольких поколениях.

Хотелось бы подчеркнуть, что до сих пор обсуждается вопрос использования активности ацетилхолинэстеразы в качестве биомаркера. Во многих исследованиях оценивалась непосредственно активность данного фермента и были получены противоречивые результаты. В одних работах было показано, что при воздействии марганца активность ацетилхолинэстеразы в крови, мозге и спинномозговой жидкости снижается [12], а в других – увеличивается или не изменяется [13]. Например, у крыс, получавших марганец с питьевой водой в течение 30 дней, наблюдалось значительное повышение

активности ацетилхолинэстеразы. Напротив, у крыс, которые потребляли марганец с питьевой водой в течение двух лет, отмечалось снижение активности фермента [14]. Возможно, такие эффекты зависят от возраста, дозы, способа, частоты и продолжительности воздействия. В связи с этим можно предположить, что концентрация ацетилхолинэстеразы (в комплексе с оценкой ее активности) может служить скрининговым биомаркером нейротоксичности марганца и риска воздействия данного металла на организм животных и человека.

Несмотря на то, что марганец является жизненно необходимым элементом, воздействие высоких доз данного металла во время беременности может в дальнейшем вызвать неблагоприятные неврологические эффекты. Такие последствия частично опосредованы взаимодействием его с холинергической системой, что может способствовать нарушению процессов обучения, памяти и двигательной активности [15]. Например, в исследованиях тайваньских ученых было показано, что внутриутробное воздействие марганца отрицательно сказывалось на состоянии нервной системы детей в возрасте 2 лет, особенно в отношении когнитивных способностей и речи. Также отмечается, что неблагоприятные исходы пренатального воздействия могут проявиться и на более поздних этапах жизненного цикла. Появляются работы, в которых рассматриваются эпигенетические механизмы, способствующие развитию хронических заболеваний у взрослых людей в связи с пренатальным воздействием марганца [16]. Показано, что нарушение функционирования холинергической системы приводит к развитию различных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера или тяжелая миастения [17]. Несмотря на то, что некоторые симптомы болезни Паркинсона в значительной степени связаны с нарушением функционирования дофаминергической системы, исследования показывают, что холинергическая система может играть важную роль в развитии данного заболевания [18, 19].

Исследование продемонстрировало, что пренатальное воздействие сульфата марганца способно изменять концентрацию ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови не только крыс-

матерей, но и потомства в нескольких поколениях. По нашему мнению, концентрацию ацетилхолинэстеразы в сыворотке крови, подобно показателю активности данного белка,

можно рассматривать в качестве скринингового биомаркера нейротоксичности марганца.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Bjørklund G., Chartrand M.S., Aaseth J. Manganese Exposure and Neurotoxic Effects in Children // *Environ. Res.* 2017. Vol. 155. P. 380–384. DOI: [10.1016/j.envres.2017.03.003](https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.003)
2. Horning K.J., Caito S.W., Tipps K.G., Bowman A.B., Aschner M. Manganese Is Essential for Neuronal Health // *Annu. Rev. Nutr.* 2015. Vol. 35. P. 71–108. DOI: [10.1146/annurev-nutr-071714-034419](https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034419)
3. Bailey L.A., Kerper L.E., Goodman J.E. Derivation of an Occupational Exposure Level for Manganese in Welding Fumes // *Neurotoxicology.* 2018. Vol. 64. P. 166–176. DOI: [10.1016/j.neuro.2017.06.009](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.06.009)
4. Bouabid S., Tinakoua A., Lakhdar-Ghazal N., Benazzouz A. Manganese Neurotoxicity: Behavioral Disorders Associated with Dysfunctions in the Basal Ganglia and Neurochemical Transmission // *J. Neurochem.* 2016. Vol. 136, № 4. P. 677–691. DOI: [10.1111/jnc.13442](https://doi.org/10.1111/jnc.13442)
5. Sarkar S., Malovic E., Harischandra D.S., Ngwa H.A., Ghosh A., Hogan C., Rokad D., Zenitsky G., Jin H., Anantharam V., Kanthasamy A.G., Kanthasamy A. Manganese Exposure Induces Neuroinflammation by Impairing Mitochondrial Dynamics in Astrocytes // *Neurotoxicology.* 2018. Vol. 64. P. 204–218. DOI: [10.1016/j.neuro.2017.05.009](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.05.009)
6. Peres T.V., Schettinger M.R., Chen P., Carvalho F., Avila D.S., Bowman A.B., Aschner M. Manganese-Induced Neurotoxicity: A Review of Its Behavioral Consequences and Neuroprotective Strategies // *BMC Pharmacol. Toxicol.* 2016. Vol. 17, № 1. Art. № 57. DOI: [10.1186/s40360-016-0099-0](https://doi.org/10.1186/s40360-016-0099-0)
7. Henn B.C., Bellinger D.C., Hopkins M.R., Coull B.A., Ettinger A.S., Jim R., Hatley E., Christiani D.C., Wright R.O. Maternal and Cord Blood Manganese Concentrations and Early Childhood Neurodevelopment Among Residents Near a Mining-Impacted Superfund Site // *Environ. Health Perspect.* 2017 Vol. 125, № 6. Art. № 067020. DOI: [10.1289/EHP925](https://doi.org/10.1289/EHP925)
8. Rahman A., Kumarathasan P., Gomes J. Infant and Mother Related Outcomes from Exposure to Metals with Endocrine Disrupting Properties During Pregnancy // *Sci. Total Environ.* 2016. Vol. 569–570. P. 1022–1031. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2016.06.134](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.134)
9. Lionetto M.G., Caricato R., Calisi A., Giordano M.E., Schettino T. Acetylcholinesterase as a Biomarker in Environmental and Occupational Medicine: New Insights and Future Perspectives // *Biomed. Res. Int.* 2013. Vol. 2013. Art. № 321213. DOI: [10.1155/2013/321213](https://doi.org/10.1155/2013/321213)
10. Kacholi D.S., Sahu M. Levels and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soil, Water, and Vegetables of Dar es Salaam, Tanzania // *J. Chem.* 2018. Vol. 2018. Art. № 1402674. DOI: [10.1155/2018/1402674](https://doi.org/10.1155/2018/1402674)
11. Chtourou Y., Fetoui H., Garoui el M., Boudawara T., Zeghal N. Improvement of Cerebellum Redox States and Cholinergic Functions Contribute to the Beneficial Effects of Silymarin Against Manganese-Induced Neurotoxicity // *Neurochem. Res.* 2012. Vol. 37, № 3. P. 469–479. DOI: [10.1007/s11064-011-0632-x](https://doi.org/10.1007/s11064-011-0632-x)
12. Santos D., Milatovic D., Andrade V., Batoreu M.C., Aschner M., Marreilha dos Santos A.P. The Inhibitory Effect of Manganese on Acetylcholinesterase Activity Enhances Oxidative Stress and Neuroinflammation in the Rat Brain // *Toxicology.* 2012. Vol. 292, № 2-3. P. 90–98. DOI: [10.1016/j.tox.2011.11.017](https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.11.017)
13. Fernsebner K., Zorn J., Kanawati B., Walker A., Michalke B. Manganese Leads to an Increase in Markers of Oxidative Stress as well as to a Shift in the Ratio of Fe(II)/(III) in Rat Brain Tissue // *Metallomics.* 2014. Vol. 6, № 4. P. 921–931. DOI: [10.1039/c4mt00022f](https://doi.org/10.1039/c4mt00022f)
14. Martins A.C. Jr., Morcillo P., Ijomone O.M., Venkataramani V., Harrison F.E., Lee E., Bowman A.B., Aschner M. New Insights on the Role of Manganese in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2019. Vol. 16, № 19. Art. № 3546. DOI: [10.3390/ijerph16193546](https://doi.org/10.3390/ijerph16193546)
15. Calabresi P., Ammassari-Teule M., Gubellini P., Sancesario G., Morello M., Centonze D., Marfia G.A., Saulle E., Passino E., Picconi B., Bernardi G. A Synaptic Mechanism Underlying the Behavioral Abnormalities Induced by Manganese Intoxication // *Neurobiol. Dis.* 2001. Vol. 8, № 3. P. 419–432. DOI: [10.1006/nbdi.2000.0379](https://doi.org/10.1006/nbdi.2000.0379)
16. Maccani J.Z.J., Koestler D.C., Houseman E.A., Armstrong D.A., Marsit C.J., Kelsey K.T. DNA Methylation Changes in the Placenta Are Associated with Fetal Manganese Exposure // *Reprod. Toxicol.* 2015. Vol. 57. P. 43–49. DOI: [10.1016/j.reprotox.2015.05.002](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.05.002)

17. Bowman A.B., Kwakye G.F., Herrero Hernández E., Aschner M. Role of Manganese in Neurodegenerative Diseases // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2011. Vol. 25, № 4. P. 191–203. DOI: [10.1016/j.jtemb.2011.08.144](https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2011.08.144)
18. Tuschl K., Mills P.B., Clayton P.T. Manganese and the Brain // *Int. Rev. Neurobiol.* 2013. Vol. 110. P. 277–312. DOI: [10.1016/B978-0-12-410502-7.00013-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410502-7.00013-2)
19. Michalke B. Manganese Speciation Related to Neurotoxicity in Humans // *Metal Ion in Stroke* / ed. by Y.V. Li, J.H. Zhang. New York: Springer, 2012. P. 569–589. DOI: [10.1007/978-1-4419-9663-3_28](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9663-3_28)

References

1. Bjørklund G., Chartrand M.S., Aaseth J. Manganese Exposure and Neurotoxic Effects in Children. *Environ. Res.*, 2017, vol. 155, pp. 380–384. DOI: [10.1016/j.envres.2017.03.003](https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.03.003)
2. Horning K.J., Caito S.W., Tipps K.G., Bowman A.B., Aschner M. Manganese Is Essential for Neuronal Health. *Annu. Rev. Nutr.*, 2015, vol. 35, pp. 71–108. DOI: [10.1146/annurev-nutr-071714-034419](https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034419)
3. Bailey L.A., Kerper L.E., Goodman J.E. Derivation of an Occupational Exposure Level for Manganese in Welding Fumes. *Neurotoxicology*, 2018, vol. 64, pp. 166–176. DOI: [10.1016/j.neuro.2017.06.009](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.06.009)
4. Bouabid S., Tinakoua A., Lakhdar-Ghazal N., Benazzouz A. Manganese Neurotoxicity: Behavioral Disorders Associated with Dysfunctions in the Basal Ganglia and Neurochemical Transmission. *J. Neurochem.*, 2016, vol. 136, no. 4, pp. 677–691. DOI: [10.1111/jnc.13442](https://doi.org/10.1111/jnc.13442)
5. Sarkar S., Malovic E., Harischandra D.S., Ngwa H.A., Ghosh A., Hogan C., Rokad D., Zenitsky G., Jin H., Anantharam V., Kanthasamy A.G., Kanthasamy A. Manganese Exposure Induces Neuroinflammation by Impairing Mitochondrial Dynamics in Astrocytes. *Neurotoxicology*, 2018, vol. 64, pp. 204–218. DOI: [10.1016/j.neuro.2017.05.009](https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.05.009)
6. Peres T.V., Schettinger M.R., Chen P., Carvalho F., Avila D.S., Bowman A.B., Aschner M. Manganese-Induced Neurotoxicity: A Review of Its Behavioral Consequences and Neuroprotective Strategies. *BMC Pharmacol. Toxicol.*, 2016, vol. 17, no. 1. Art. no. 57. DOI: [10.1186/s40360-016-0099-0](https://doi.org/10.1186/s40360-016-0099-0)
7. Henn B.C., Bellinger D.C., Hopkins M.R., Coull B.A., Ettinger A.S., Jim R., Hatley E., Christiani D.C., Wright R.O. Maternal and Cord Blood Manganese Concentrations and Early Childhood Neurodevelopment Among Residents Near a Mining-Impacted Superfund Site. *Environ. Health Perspect.*, 2017, vol. 125, no. 6. Art. no. 067020. DOI: [10.1289/EHP925](https://doi.org/10.1289/EHP925)
8. Rahman A., Kumarathasan P., Gomes J. Infant and Mother Related Outcomes from Exposure to Metals with Endocrine Disrupting Properties During Pregnancy. *Sci. Total Environ.*, 2016, vol. 569–570, pp. 1022–1031. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2016.06.134](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.134)
9. Lionetto M.G., Caricato R., Calisi A., Giordano M.E., Schettino T. Acetylcholinesterase as a Biomarker in Environmental and Occupational Medicine: New Insights and Future Perspectives. *Biomed. Res. Int.*, 2013, vol. 2013. Art. no. 321213. DOI: [10.1155/2013/321213](https://doi.org/10.1155/2013/321213)
10. Kacholi D.S., Sahu M. Levels and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soil, Water, and Vegetables of Dar es Salaam, Tanzania. *J. Chem.*, 2018, vol. 2018. Art. no. 1402674. DOI: [10.1155/2018/1402674](https://doi.org/10.1155/2018/1402674)
11. Chtourou Y., Fetoui H., Garoui el M., Boudawara T., Zeghal N. Improvement of Cerebellum Redox States and Cholinergic Functions Contribute to the Beneficial Effects of Silymarin Against Manganese-Induced Neurotoxicity. *Neurochem. Res.*, 2012, vol. 37, no. 3, pp. 469–479. DOI: [10.1007/s11064-011-0632-x](https://doi.org/10.1007/s11064-011-0632-x)
12. Santos D., Milatovic D., Andrade V., Batoreu M.C., Aschner M., Marreilha dos Santos A.P. The Inhibitory Effect of Manganese on Acetylcholinesterase Activity Enhances Oxidative Stress and Neuroinflammation in the Rat Brain. *Toxicology*, 2012, vol. 292, no. 2-3, pp. 90–98. DOI: [10.1016/j.tox.2011.11.017](https://doi.org/10.1016/j.tox.2011.11.017)
13. Fernsebner K., Zorn J., Kanawati B., Walker A., Michalke B. Manganese Leads to an Increase in Markers of Oxidative Stress as well as to a Shift in the Ratio of Fe(II)/(III) in Rat Brain Tissue. *Metallomics*, 2014, vol. 6, no. 4, pp. 921–931. DOI: [10.1039/c4mt00022f](https://doi.org/10.1039/c4mt00022f)
14. Martins A.C. Jr., Morcillo P., Ijomone O.M., Venkataramani V., Harrison F.E., Lee E., Bowman A.B., Aschner M. New Insights on the Role of Manganese in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019, vol. 16, no. 19. Art. no. 3546. DOI: [10.3390/ijerph16193546](https://doi.org/10.3390/ijerph16193546)
15. Calabresi P., Ammassari-Teule M., Gubellini P., Sancesario G., Morello M., Centonze D., Marfia G.A., Saulle E., Passino E., Picconi B., Bernardi G. A Synaptic Mechanism Underlying the Behavioral Abnormalities Induced by Manganese Intoxication. *Neurobiol. Dis.*, 2001, vol. 8, no. 3, pp. 419–432. DOI: [10.1006/nbdi.2000.0379](https://doi.org/10.1006/nbdi.2000.0379)
16. Maccani J.Z.J., Koestler D.C., Houseman E.A., Armstrong D.A., Marsit C.J., Kelsey K.T. DNA Methylation Changes in the Placenta Are Associated with Fetal Manganese Exposure. *Reprod. Toxicol.*, 2015, vol. 57, pp. 43–49. DOI: [10.1016/j.reprotox.2015.05.002](https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.05.002)

17. Bowman A.B., Kwakye G.F., Herrero Hernández E., Aschner M. Role of Manganese in Neurodegenerative Diseases. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 2011, vol. 25, no. 4, pp. 191–203. DOI: [10.1016/j.jtemb.2011.08.144](https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2011.08.144)
18. Tuschl K., Mills P.B., Clayton P.T. Manganese and the Brain. *Int. Rev. Neurobiol.*, 2013, vol. 110, pp. 277–312. DOI: [10.1016/B978-0-12-410502-7.00013-2](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410502-7.00013-2)
19. Michalke B. Manganese Speciation Related to Neurotoxicity in Humans. Li Y.V., Zhang J.H. (eds.). *Metal Ion in Stroke*. New York, 2012, pp. 569–589. DOI: [10.1007/978-1-4419-9663-3_28](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9663-3_28)

DOI: 10.37482/2687-1419-Z054

*Svetlana V. Notova**/** ORCID: [0000-0002-6378-4522](https://orcid.org/0000-0002-6378-4522)
*Il'shat F. Karimov***/** ORCID: [0000-0001-6853-4242](https://orcid.org/0000-0001-6853-4242)
*Tat'yana V. Kazakova**/** ORCID: [0000-0003-3717-4533](https://orcid.org/0000-0003-3717-4533)
*Ol'ga V. Marshinskaya**/** ORCID: [0000-0002-5611-5128](https://orcid.org/0000-0002-5611-5128)

*Federal Research Centre of Biological Systems and Agro-Technologies of the Russian Academy of Sciences
(Orenburg, Russian Federation)
**Orenburg State University
(Orenburg, Russian Federation)
***Orenburg State Medical University
(Orenburg, Russian Federation)

PRENATAL EFFECT OF MANGANESE ON THE SERUM LEVEL OF ACETYLCHOLINESTERASE IN RATS

The prenatal period is critical to the development of the nervous system. In spite of the fact that manganese is an essential element, excessive exposure to this metal can lead to negative postnatal consequences. This paper examined the prenatal effect of manganese sulphate on acetylcholinesterase (AChE) concentration in two generations of rats. For that purpose, female Wistar rats received a basic diet with additional $MnSO_4$ (1433 mg/kg/day) for 28 days before gestation and during gestation (20–26 days). Young offspring of the first generation were tested for behavioural disorders using standardized behavioural assays, and, as a result, male rats with most abnormalities were selected. First-generation female offspring were subsequently used to obtain second-generation offspring, from which males with behavioural disorders were also selected. Blood samples were taken from the selected animals at the age of 18 weeks to determine AChE level. The effect of oral exposure to manganese on the body of mother rats was also assessed. The study found that female rats directly exposed to $MnSO_4$ tended to have higher AChE levels. Statistically significant changes in the level of this enzyme were observed in first-generation animals: their first quartile was 22 % greater than the third quartile of the group that had not been prenatally exposed ($p = 0.012$). Second-generation animals tended to have higher blood AChE concentration compared to intact animals. Thus, the research demonstrated that prenatal exposure to manganese sulphate affects AChE level both in the maternal body and in several generations of offspring.

Keywords: prenatal exposure, heavy metals, manganese, neurotoxic effect, acetylcholinesterase, neurotoxicity biomarkers.

Поступила 30.07.2020

Принята 09.02.2021

Received 30 July 2020

Accepted 9 February 2021

Corresponding author: Tat'yana Kazakova, address: ul. 9 Yanvarya 29, Orenburg, 460000, Russian Federation; e-mail: vaisvais13@mail.ru

For citation: Notova S.V., Karimov I.F., Kazakova T.V., Marshinskaya O.V. Prenatal Effect of Manganese on the Serum Level of Acetylcholinesterase in Rats. *Journal of Medical and Biological Research*, 2021, vol. 9, no. 2, pp. 163–170. DOI: 10.37482/2687-1419-Z054