

## ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 577.16

doi: 10.17223/19988591/54/4

Ю.С. Сидорова, Н.А. Петров, О.А. Вржесинская, В.М. Коденцова,  
Н.А. Бекетова, О.В. Кошелева, С.Н. Леоненко, С.Н. Зорин, П.С. Громовых

*Федеральный исследовательский центр питания,  
биотехнологии и безопасности пищи, г. Москва, Россия*

### **Влияние сочетанного дефицита витаминов, кальция, магния и йода на когнитивные функции растущих крыс**

Работа выполнена в рамках госзадания № 0529-2019-0062, тема «Клинико-экспериментальное обоснование оптимальной схемы коррекции алиментарной сочетанной недостаточности витаминов и минеральных веществ».

*Исследовано влияние полигиповитаминоза в сочетании с недостаточностью кальция, магния и йода у растущих самцов крыс-отъёмшей стока Wistar с исходной массой тела  $51,4 \pm 0,5$  г на проявление безусловного рефлекса и способность к обучению в ответ на воздействие электрическим током. Крысы контрольной группы (I) потребляли полноценный полусинтетический рацион, крысы II группы (- Ca, Mg, I) – тот же рацион, но с уменьшенным на 50% в минеральной смеси количеством кальция, магния и йода, крысы III группы (- Vit) получали рацион, содержащий 100% минеральных веществ с уменьшенным до 20% количеством витаминной смеси при полном исключении из нее витамина E. Животных IV группы (- Vit, Ca, Mg, I) содержали на дефицитном по витаминам и минеральным веществам рационе. На 7-е сутки развития микронутриентной недостаточности у крыс ухудшено воспроизведение безусловного рефлекса (фотофобии). Выявлено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение долгосрочной памяти у животных, содержавшихся на рационе с дефицитом витаминов (- Vit) и одновременно сниженным уровнем витаминов, кальция, магния и йода (- Vit, Ca, Mg, I). На основании величин латентного времени входа в темный отсек в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» через 1 сутки и через 14 суток установлено, что ухудшение памяти обусловлено снижением в рационе содержания витаминов, тогда как дефицит минеральных веществ не влиял на эти параметры.*

**Ключевые слова:** мультимикронутриентная недостаточность; условный рефлекс пассивного избегания; витамины; минеральные вещества; долговременная память

**Сокращения [Abbreviations]:** LT – латентный период [Latent time].

**Для цитирования:** Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Кошелева О.В., Леоненко С.Н., Зорин С.Н., Громовых П.С. Влияние сочетанного дефицита витаминов, кальция, магния и йода на когнитивные функции растущих крыс // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 64–82. doi: 10.17223/19988591/54/4

## Введение

Эпидемиологические обследования и мониторинг питания населения Российской Федерации свидетельствуют о недостаточном содержании в рационе витаминов D, группы B, кальция, магния, йода [1, 2]. В результате для населения нашей страны характерно сочетание одновременной недостаточности сразу нескольких эссенциальных микронутриентов.

Адекватная обеспеченность организма микронутриентами является необходимым условием для осуществления мыслительной функции. Предполагается, что повышенная концентрация некоторых витаминов, в частности витамина C и фолата, в мозге человека по сравнению с плазмой крови необходима для предотвращения окислительного повреждения ДНК и оптимизации ее восстановления [3]. Большинство исследований посвящено изучению влияния на когнитивные функции недостаточности одного витамина или минерального вещества. Показано, что даже умеренно сниженный статус витамина D или фолата сопровождался ухудшением когнитивной функции у пожилых людей по нескольким параметрам [4, 5]. При дефиците витамина D у крыс в 1,6 раза увеличивалось число неудачных попыток прохождения водного лабиринта Морриса [6]. Недостаточность витамина A препятствовала обучению и сохранению памяти у молодых крыс [7]. Сниженный уровень в плазме крови витаминов A, C, D, B<sub>12</sub>, E, фолатов ассоциируется со снижением когнитивных функций [3]. В тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» у взрослых крыс-самок, получавших в течение 8 недель безмагниевую диету, при обучении увеличивался латентный период захода в темную камеру; при воспроизведении навыка латентный период захода в темную «опасную» камеру увеличивался на 11,4% ( $p < 0,05$ ) [8].

Дефицит йода даже в легкой и умеренной степени связан с ухудшением показателя IQ, чтения и правописания у детей [9]. Во многих эндемичных йододефицитных районах Китая от 5 до 15% детей страдают легкой умственной отсталостью (коэффициент IQ 50–69) [10]. При обследовании 337 лиц в возрасте 49 лет установлена статистически значимая связь между более высоким уровнем в плазме крови кальция и магния с когнитивными показателями [11].

Имеются лишь отдельные работы по исследованию влияния сочетанного недостатка всех витаминов (полигиповитаминоза) на обучаемость крыс. Сочетанный дефицит витаминов группы B (B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> и фолата) в течение 10 недель сопровождался гомоцистеинемией и значительно ухудшал обучаемость и память мышей [12]. Пребывание крыс на полигиповитаминозном рационе в течение 12 суток приводило к ухудшению воспроизведения безусловного рефлекса (фотофобии), статистически значимому увеличению в 3,2 раза латентного периода перехода в темный отсек лабиринта по сравнению с животными, получавшими полноценный рацион, но не отразилось на их способности к обучению [13].

В связи с широкой распространенностью у взрослого и детского населения нашей страны недостаточного потребления с пищей витаминов, кальция, магния и йода, представлялось целесообразной попытка охарактеризовать влияние дефицита этих микронутриентов у растущих животных как отражение степени воздействия пищевых дефицитов на обучаемость детей. Организм детей наиболее чувствителен к алиментарным дефицитам, в связи с этим в качестве модели были использованы крысы-отъемыши, аппроксимация возраста которых по таблицам пересчета на возраст человека соответствует примерно 4–5 годам жизни ребенка [14]. Содержание крыс в течение 23 суток на дефицитном рационе по продолжительности соответствовало примерно 4 годам жизни ребенка [15].

Цель работы – изучить влияние сочетанной недостаточности витаминов, кальция, магния и йода на проявление безусловного рефлекса и способность к обучению растущих крыс в ответ на воздействие электрическим током.

### Материалы и методики исследования

Эксперимент проведен на 46 самцах крыс-отъемышей стока Wistar с исходной массой тела  $51,4 \pm 0,5$  г, полученных из питомника лабораторных животных филиала «Столбовая» Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» (Московская обл., Чеховский р-н, г.п. Столбовая). Исследования на животных выполнены в соответствии с требованиями ГОСТ 33216–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами». Протокол исследования одобрен комитетом по этике ФИЦ питания и биотехнологии.

Животных содержали по 2 крысы в клетке в контролируемых условиях окружающей среды (температура 20–26 °С, относительная влажность 30–60%, 12-часовой цикл освещения). Животные получали корм *ad libitum* и имели постоянный доступ к дистиллированной воде, содержание в которой Са составило 77 мкг/мл, Mg – 33 мкг/мл.

В исследовании применен предварительный отборочный подход, заключающийся в изначальном разделении крыс в зависимости от показателей их поведения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», основанном на естественном стремлении животного оставаться в закрытых (темных) местах и природном страхе к открытым пространствам и высотам. В тесте изучено поведение животных в условиях переменной стрессогенности, т.е. при свободном выборе комфортных условий, что позволяет оценить степень выраженности эмоциональной реакции страха и тревоги, двигательную активность, скорость ориентировочных реакций. Время пребывания крысы в лабиринте составляло 5 мин. При тестировании регистрировали число заходов и время пребывания в закрытых и открытых рукавах, общую иссле-

довательскую активность. Тестирование проводили до начала кормления животных экспериментальными рационами и на 21-е сутки. Перемещение крыс по лабиринту регистрировали с помощью системы видеонаблюдения «Smart 3.0.04» («Panlab Harvard Apparatus», Испания).

**Модель.** В течение первых 5 суток всех животных содержали на полноценном полусинтетическом рационе, содержащем 20% казеина пищевого кислотного по ГОСТ 31689–2012 (содержание белка не менее 90,0%), 64% кукурузного крахмала, 9% жира (смесь подсолнечного масла и лярда 1:1), 3,5% стандартной солевой смеси (AIN93), 2% микрокристаллической целлюлозы, 1% сухой витаминной смеси, 0,30% L-цистеина, 0,25% холина битартрата. По результатам теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» и массе тела животных рандомизированно распределяли на 4 группы по 10–12 крыс в каждой группе.

В последующие 23 дня животные получали экспериментальные рационы. Животные I группы (контроль,  $n = 12$ ) получали полноценный по содержанию белка, жиров и углеводов рацион с полноценной витаминно-минеральной смесью. Крысы II группы (- Ca, Mg, I,  $n = 12$ ) – тот же рацион, но содержащий 100% витаминов и дефицитный по кальцию, магнию и йоду за счет уменьшения их количества в минеральной смеси на 50% по сравнению с таковым в рационе контрольной группы. Крысы III группы (- Vit,  $n = 10$ ) получали рацион, содержащий 100% минеральных веществ и дефицитный по всем витаминам за счет уменьшения количества витаминной смеси до 20% от уровня в рационе контрольной группы при полном исключении из неё витамина E [16]. Животных IV группы (- Vit, Ca, Mg, I,  $n = 12$ ) содержали на дефицитном по витаминам и минеральным веществам рационе за счет уменьшения содержания витаминной смеси в 5 раз и уменьшения количества кальция, магния и йода в минеральной смеси в 2 раза. Среднесуточное количество поедаемого корма в расчете на одну крысу составило  $14,5 \pm 0,4$  г во всех группах животных. Еженедельно проводили контроль массы тела животных на весах с точностью до 0,1 г.

**Тест «Условный рефлекс пассивного избегания».** Оценка поведения и памяти животных проведена в традиционно принятом тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» [17, 18]. При обучении крысу однократно помещали в светлый отсек камеры спиной к темному отсеку. Регистрировали латентный период (ЛП) пребывания в светлом отсеке камеры. Как только крыса переходила в темный отсек камеры, она получала электрокожное раздражение на лапы (ток 0,4 мА не более 8 с), затем крысу сразу же переводили в жилую клетку. Через 24 ч после обучения у животных проверяли сохранность памятного следа. Для этого животных подвергали тестированию в той же камере, но без подачи тока. ЛП пребывания в светлом отсеке камеры при тестировании рассматривали в качестве показателя, характеризующего степень запоминания крысой отрицательного опыта – удара током. Если животное не переходило в темный отсек камеры в течение 180 с, то считали, что памятный след полностью сохранен.

Для оценки влияния недостаточности витаминов и/или минеральных веществ на процессы забывания тестирование сохранения памятного следа проводили спустя отдаленный интервал времени – 2 недели. Обучение проводили на 7-е сутки эксперимента, проверку обучения (памятного следа) – на 8-е сутки, оценку долгосрочной памяти – на 21-е сутки эксперимента. О сохранности навыка судили по изменению латентного времени захода крысы в темный отсек.

На 23-е сутки предварительно анестезированных эфиром крыс выводили из эксперимента путем декапитации.

**Определение витаминов.** Для подтверждения развития дефицита витаминов у крыс, способных к синтезу витамина С, в качестве показателей витаминного статуса определяли жирорастворимый витамин-антиоксидант Е и 2 водорастворимых витамина группы В ( $V_1$  и  $V_2$ ). Содержание в целом лиофильно высушенном головном мозге витамина Е ( $\alpha$ -токоферол) определяли с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, используя хроматографическую систему («Jasco», Япония), включающую спектрофлуориметрический детектор «Jasco 821-FP» ( $\lambda_{\text{возб}}=292$  нм,  $\lambda_{\text{эм}}=330$  нм); насос «Jasco 880-PU», обеспечивающий подачу элюента (смесь ацетонитрила, метанола, дихлорметана в объемном соотношении 50:45:5) в изократическом режиме со скоростью 0,7 мл/мин; стальную колонку Nucleosil 100–5 C18 длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм [19]. После проведения кислотно-ферментативного гидролиза образцов целого лиофильно высушенного головного мозга витамин  $V_1$  определяли флуориметрически тиохромным методом, витамин  $V_2$  – флуориметрически титрованием апорифлавиновсвязывающим белком с использованием спектрофлуориметра F-2000 («Hitachi», Япония) [16, 20].

**Статистический анализ.** Выборка включала 46 самцов крыс-отъемышей стока Wistar, 4 группы по 10–12 крыс в каждой группе. Концентрация витаминов определена в трех повторностях. Физиологические тесты проведены однократно. На рисунках и в таблицах приведены средние значения и стандартная ошибка среднего ( $M \pm m_M$ ). Статистическая обработка данных проведена в программе IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM, США). Для попарного сравнения выборочных совокупностей использованы критерии: непараметрический U-критерий Манна–Уитни и непараметрический критерий Краскелла–Уоллеса для независимых переменных. Статистическую значимость различий результатов считали при достижении порога вероятности 5% ( $p < 0,05$ ).

## Результаты исследования

Влияние недостаточности витаминов и/или кальция, магния и йода исследовано на трех группах растущих крыс, получавших дефицитные по соответствующим микронутриентам рационы, в сравнении с животными того же возраста, получавших полноценный полусинтетический рацион.

Общее состояние всех животных по внешнему виду, качеству шерстного покрова и поведению при осмотре во время тестирований оценено как удовлетворительное.

**Развитие дефицита микронутриентов.** Различий в массе тела животных в течение всего эксперимента не выявлено (табл. 1). О развитии недостаточности витаминов у животных свидетельствовало статистически значимое ( $p < 0,001$ ) снижение в целом головном мозге содержания измеренных в конце эксперимента витамина В<sub>1</sub> на 28,7% и витамина Е на – 18,0% (табл. 1, группа III). Снижение в рационе содержания минеральных веществ не влияло на уровень витаминов в целом мозге.

Таблица 1 [Table 1]

**Масса тела и содержание витаминов в целом головном мозге (мкг/г) крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы, в конце эксперимента**  
 [The body mass and vitamin content in the whole brain (µg/g) of Wistar rats receiving diets deficient in vitamins and / or mineral substances at the end of the experiment] ( $M \pm m_n$ )

Показатель [Indicator]	Группа животных [Group of animals]				p
	I Контроль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)	
Масса тела, г [Body mass, g]	190,0 ± 11,8	193,0 ± 12,4	182,9 ± 17,3	187,3 ± 12,6	–
Витамин В <sub>1</sub> [Vitamin B <sub>1</sub> ]	4,53 ± 0,13	4,29 ± 0,18	3,23 ± 0,09	3,12 ± 0,11	$p_{I-III} < 0,001$ $p_{I-IV} < 0,001$ $p_{II-III} < 0,001$ $p_{II-IV} < 0,001$
Витамин В <sub>2</sub> [Vitamin B <sub>2</sub> ]	2,74 ± 0,10	2,71 ± 0,12	2,67 ± 0,16	2,90 ± 0,09	–
Витамин Е (α-токоферол) [Vitamin E (α-tocopherol)]	15,0 ± 0,3	14,4 ± 0,5	12,3 ± 0,3	13,2 ± 0,3	$p_{I-III} < 0,001$ $p_{I-IV} < 0,001$ $p_{II-IV} = 0,089$

**Тревожность и двигательная активность.** В табл. 2 представлены результаты оценки тревожности и двигательной активности перед началом эксперимента (первое тестирование) и после 21 суток кормления животных дефицитными по микронутриентам рационами (второе тестирование) в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт».

При первом тестировании временные интервалы, проведенные животными в открытых и закрытых рукавах лабиринта, а также двигательная активность не различались. При вторичном тестировании поведение животных всех групп существенно не изменилось, что свидетельствует об отсутствии влияния развивающихся в течение 21 суток дефицитов микронутриентов на степень тревожности растущих крыс. В то же время во втором тестировании животные контрольной группы и животные, получавшие дефицитный по содержанию кальция, магния и йода рацион, меньше перемещались по

лабиринту, что подтверждается статистически значимо ( $p < 0,05$ ) меньшей длиной пройденной дистанции, чем при первом тестировании.

Таблица 2 [Table 2]

**Характеристика поведения крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы, в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»**  
**[Behavior characteristics of Wistar rats receiving rations deficient in vitamins and/or mineral substances in the test “Elevated plus maze”] ( $M \pm m_n$ )**

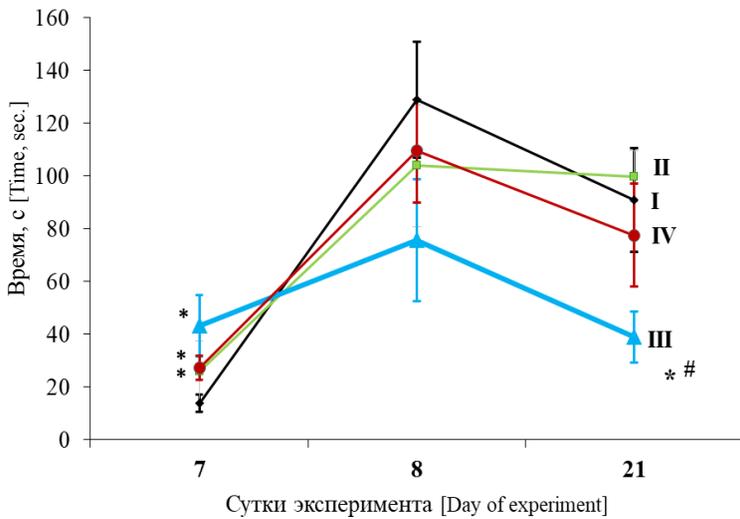
Показатель [Indicator]	Тест 1 (перед началом эксперимента) [Test 1 (before starting the experiment)]				Тест 2 (тестирование на 21-е сутки эксперимента) [Test 2 (testing on the 21 <sup>st</sup> day of the experiment)]			
	I Кон- троль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)	I Кон- троль [Control]	II (- Ca, Mg, I)	III (- Vit)	IV (- Vit, Ca, Mg, I)
Время пребывания в открытых рукавах, с [Stay time in open arms, sec.]	60 ± 8	66 ± 13	57 ± 10	61 ± 10	42 ± 8	53 ± 15	59 ± 9	47 ± 9
Время пребывания в закрытых рукавах, с [Stay time in closed arms, sec.]	209 ± 9	201 ± 16	215 ± 13	208 ± 13	209 ± 9	201 ± 16	216 ± 13	208 ± 14
Общее число переходов [Total number of transitions]	24 ± 3	24 ± 4	23 ± 3	24 ± 3	19 ± 2	18 ± 4	25 ± 3	21 ± 3
Пройденная дистанция, см [Total distance, cm]	1400 ± 52	1389 ± 106	1381 ± 125	1391 ± 112	1072 ± 94*	1016 ± 123*	1153 ± 128	1221 ± 117

*Примечание.* \* – статистически значимые различия по сравнению с тестом 1 ( $p < 0,05$ ).

[Notes. \* The differences are significant relative to Test 1 ( $p < 0.05$ )].

У крыс из дефицитных по содержанию витаминов групп сохранена высокая двигательная активность. Таким образом, у крыс контрольной группы и с дефицитом минеральных веществ (- Ca, Mg, I) двигательная активность снизилась, а у крыс как с дефицитом только витаминов (- Vit), так и с сочетанным дефицитом витаминов и минеральных веществ (- Vit, Ca, Mg, I) не изменилась.

**Когнитивные функции кратковременной и длительной памяти.** Результаты оценки когнитивных функций кратковременной и длительной памяти представлены на рис. 1 и 2.



**Рис. 1.** Латентное время в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» в динамике у крыс стока Wistar, получавших разные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы ( $M \pm m_M$ ):

I – контроль; II – (- Ca, Mg, I); III – (- Vit); IV – (- Vit, Ca, Mg, I).

*Примечания:* \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы (I); # – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) относительно группы (- Ca, Mg, I) согласно U-критерию Манна–Уитни [Fig. 1. The latent time (in the dynamics) of the passive avoidance reaction in Wistar rats feeding on rations with different content of vitamins and / or mineral substances ( $M \pm m_M$ ):

I - Control; II - (- Ca, Mg, I); III - (- Vit); IV - (- Vit, Ca, Mg, I).

*Notes:* \* the differences are significant ( $p < 0.05$ ) relative to the control group (I);

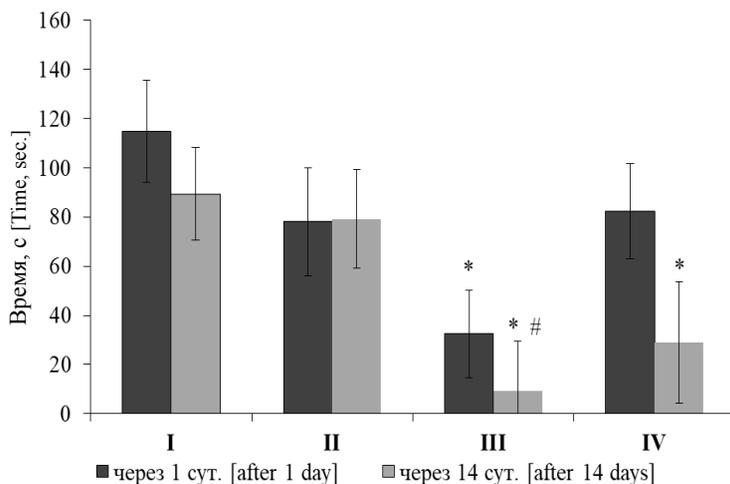
# the differences are significant ( $p < 0.05$ ) relative to the group (- Ca, Mg, I) according to the Mann-Whitney U-test]

Во время первого тестирования (выработка условного рефлекса пассивного избегания) животные всех групп входили в темный отсек камеры (100% выработка рефлекса). Однако если под влиянием исследовательского поведения и врожденного предпочтения темных участков пространства (фотофобии) крысы, получавшие полноценный рацион, достаточно быстро заходили в темный отсек, то уже через 7 суток кормления экспериментальными рационами животные всех дефицитных по витаминам, минеральным веществам или с одновременным дефицитом эссенциальных микронутриентов групп входили в темный отсек статистически значимо ( $p < 0,05$ ) позже (см. рис. 1). Относительно контроля время пребывания в светлом отсеке камеры у крыс с дефицитом витаминов (- Vit) увеличилось в 3 раза, а у крыс с дефицитом минеральных веществ (- Ca, Mg, I) и сочетанным недостатком микронутриентов (- Vit, Ca, Mg, I) – соответственно в 1,85 и 1,95 раза.

Через 24 ч при тестировании краткосрочной памяти различия между группами не выявлялись. Через 2 недели при оценке долгосрочной памяти

животные с дефицитом витаминов (- Vit) статистически значимо ( $p < 0,05$ ) быстрее перемещались в темную камеру по сравнению как с животными, получавшими полноценный рацион (контрольная группа), так и с животными (- Ca, Mg, I), в рационе которых имелся недостаток минеральных веществ (рис. 1).

**Способность крыс к запоминанию.** Способность крыс к запоминанию нанесенного электрошокового раздражения оценена по разнице латентного времени до (1-е тестирование после 7 суток кормления животных рационами с различным содержанием микронутриентов) и после обучения через последующие 1 сутки и 14 суток (см. рис. 2).



**Рис. 2.** Разница латентного времени входа в темный отсек крыс стока Wistar, получавших дефицитные по содержанию витаминов и/или минеральных веществ рационы ( $M \pm m_M$ ): I – контроль; II – (- Ca, Mg, I); III – (- Vit); IV – (- Vit, Ca, Mg, I).

*Примечания:* \* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) относительно контрольной группы (I); # – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) относительно группы (- Ca, Mg, I) согласно U-критерию Манна–Уитни [Fig. 2. The difference in the latent time of entry into the dark compartment of Wistar rats fed on rations deficient in vitamins and / or mineral substances ( $M \pm m_M$ ): I - Control; II - (- Ca, Mg, I); III - (- Vit); IV - (- Vit, Ca, Mg, I).

*Notes:* \* the differences are significant ( $p < 0.05$ ) relative to the control group (I);

# the differences are significant ( $p < 0.05$ ) relative to the group (- Ca, Mg, I) according to the Mann-Whitney U-test]

Из данных, представленных на рис. 2, видно, что у животных с дефицитом витаминов (- Vit) уже через 24 ч после первого тестирования латентный период нахождения крыс в светлом отсеке до их перехода в темный отсек статистически значимо ( $p < 0,05$ ) меньше по сравнению с показателем животных из контрольной группы, получавших полноценный рацион. Через

14 суток этот показатель статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижен и по сравнению с группой II (- Ca, Mg, I). Полученный результат свидетельствует об ухудшении памяти и когнитивных функций у животных, получавших дефицитный по витаминам рацион (- Vit). Статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение показателя долгосрочной памяти выявлено также у животных, сохранившихся на рационе с одновременно сниженным уровнем витаминов, кальция, магния и йода (- Vit, Ca, Mg, I). На основании полученных результатов можно заключить, что ухудшение памяти и когнитивных функций обусловлено именно снижением в рационе содержания витаминов. Неожиданным оказался тот факт, что при сочетанном недостатке в рационе витаминов и минеральных веществ (- Vit, Ca, Mg, I) относительное латентное время через 24 ч не отличалось от параметра у животных, получавших полноценный рацион (контрольная группа).

### Обсуждение результатов исследования

Ранее нами было показано, что у крыс на 12-е сутки кормления их витаминдефицитным рационом ухудшилось воспроизведение безусловного рефлекса фотофобии [13]. В данной работе оказалось, что изменения проявляются значительно раньше – уже на 7-е сутки. Одним из механизмов может быть снижение концентрации витамина D в головном мозге, поскольку физиологические концентрации витамина D в мозге оказывают нейропротекторное действие [21]. Дополнительный вклад в снижение концентрации гормональной формы этого витамина мог вносить дефицит магния, являющегося кофактором в реакциях метаболизма витамина D [22]. Влияние микронутриентной недостаточности на высшую нервную деятельность исследовано на модели однократного обучения в тесте «Условный рефлекс пассивного избегания» с двумя камерами, в ходе которого обнаружено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) ухудшение долгосрочной памяти, что согласуется с данными литературы о нарушении обучаемости животных при изолированном дефиците каждого из витаминов D, A или B<sub>1</sub>, при нарушении эндогенного синтеза аскорбиновой кислоты [6, 23–27], а также при сочетанной недостаточности витаминов группы B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, B<sub>12</sub>), которые необходимы для осуществления когнитивных функций [12, 29, 30]. Большинство работ в этой области посвящено исследованию алиментарного дефицита какого-либо одного пищевого компонента рациона, зачастую исследования проведены на половозрелых интактных крысах, лишенных одного эссенциального вещества (чаще всего магния), в течение длительного времени, как правило, 8 недель, или влияние биологически активных веществ растительного или животного происхождения (например, карнозина) изучено на фоне адекватной обеспеченности эссенциальными веществами [28]. Так, у потомства беременных крыс, потреблявших рационы с дефицитом витаминов B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub> и B<sub>9</sub>, и у взрослых крыс, получавших такую же витаминдефицитную диету

в период жизни от 2 до 8 месяцев, нарушились координация движений и способность к обучению, причем морфологически подтвержденные нарушения более выражены у молодых животных [31]. Принципиальным отличием данного исследования явилось изучение обучаемости растущих крыс в условиях разившейся в течение 23 дней сочетанной множественной недостаточности эссенциальных микронутриентов (всех витаминов и трех минеральных элементов), что характерно для питания большинства категорий населения нашей страны [1, 2]. В данном исследовании для оценки выработки условного рефлекса пассивного избегания использована двухкамерная установка, тогда как, по мнению некоторых авторов, использование трехкамерной установки с «неопасной» темной камерой могло бы дать больше информации [28, 32].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о важности адекватной обеспеченности организма всеми витаминами и минеральными веществами. Не вызывает сомнения, что для поддержания когнитивных функций и памяти на оптимальном уровне необходимо корректировать алиментарный недостаток витаминов путем дополнительного их включения в рацион [3].

### Заключение

Таким образом, развитие микронутриентной недостаточности (одновременный дефицит всех витаминов, кальция, магния и йода) у растущих крыс-отъемышей стока Wistar уже через 7 суток кормления экспериментальными рационами привело к ухудшению воспроизведения безусловного рефлекса (фотофобии), а в дальнейшем к снижению долгосрочной памяти. При этом основной вклад в нарушение обучаемости и долговременной памяти внес дефицит витаминов. Другими словами, полигиповитаминоз у крыс оказал амнестическое действие. Для понимания конкретных механизмов нарушения требуются дальнейшие исследования, предполагающие изучение влияния дефицита функционально связанных витаминов группы В, изолированного дефицита витамина D, а также дефицита витамина Е. Не меньший интерес могут представлять собой исследования возможности восстановления нарушенных когнитивных функций путем восполнения недостатка в рационе исследованных микронутриентов. Полученные данные свидетельствуют о необходимости коррекции полигиповитаминозных и полимикрэлементозных состояний для оптимизации микронутриентной обеспеченности детского и взрослого населения.

### Литература

1. Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Рисник Д.В., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы // Вопросы питания. 2017. Т. 86, № 4. С. 113–124. doi: [10.24411/0042-8833-2017-00067](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067)

2. Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Характеристика обеспеченности витаминами взрослого населения Российской Федерации // Профилактическая медицина. 2018. Т. 21, № 4. С. 32–37. doi: [10.17116/profmed201821432](https://doi.org/10.17116/profmed201821432)
3. Fenech M. Vitamins associated with brain aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease: biomarkers, epidemiological and experimental evidence, plausible mechanisms, and knowledge gaps // *Advances in Nutrition*. 2017. Vol. 8, № 6. PP. 958–970. doi: [10.3945/an.117.015610](https://doi.org/10.3945/an.117.015610)
4. Basheer M.P., Kumar K.P., Sreekumaran E., Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India // *Alexandria journal of medicine*. 2016. Vol. 52, № 4. PP. 303–308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
5. Laughlin G.A., Kritiz-Silverstein D., Bergstrom J., Reas E.T., Jassal S.K., Barrett-Connor E., McEvoy L.K. Vitamin D insufficiency and cognitive function trajectories in older adults: the Rancho Bernardo Study // *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017. Vol. 58, № 3. PP. 871–883. doi: [10.3233/JAD-161295](https://doi.org/10.3233/JAD-161295)
6. Taghizadeh M., Talaei S.A., Salami M. Vitamin D deficiency impairs spatial learning in adult rats // *Iranian Biomedical Journal*. 2013. Vol. 17, № 1. PP. 42–48.
7. Mao C.-T., Li T.-Y., Liu Y.-X., Qu P. Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats // *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2005. Vol. 43, № 7. PP. 526–530.
8. Спасов А.А., Бугаева Л.И., Лебедева С.А., Бундикова Т.М. Изучение поведения, мнестических реакций и болевой чувствительности у крыс самок при экспериментальном дефиците магния // *Фармация и фармакология*. 2015. № 3 (Приложение 1). С. 104–105.
9. Bath S.C., Combet E., Scully P., Zimmermann M.B., Hampshire-Jones K.H., Rayman M.P. A multi-centre pilot study of iodine status in UK schoolchildren, aged 8–10 years // *European journal of nutrition*. 2016. Vol. 55, № 6. PP. 2001–2009. doi: [10.1007/s00394-015-1014-y](https://doi.org/10.1007/s00394-015-1014-y)
10. Sun D., Codling K., Chang S., Zhang S., Shen H., Su X., Chen Z., Scherpbier R.W., Yan J. Eliminating iodine deficiency in China: achievements, challenges and global implications // *Nutrients*. 2017. Vol. 9, № 4. e361. doi: [10.3390/nu9040361](https://doi.org/10.3390/nu9040361)
11. Basheer M.P., Pradeep Kumar K.P., Sreekumaran E., Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India // *Alexandria journal of medicine*. 2016. Vol. 52, № 4. PP. 303–308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
12. Troen A.M., Shea-Budgell M., Shukitt-Hale B., Smith D.E., Selhub J., Rosenberg I.H. B-Vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008. Vol. 105, № 34. PP. 12474–12479. doi: [10.1073/pnas.0805350105](https://doi.org/10.1073/pnas.0805350105)
13. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Кошелева О.В., Сидорова Ю.С., Зорин С.Н., Мазо В.К. Влияние полигиповитаминоза на проявление безусловного рефлекса и обучаемость у растущих крыс // *Вопросы питания*. 2015. Т. 84, № 1. С. 31–37. doi: [10.24411/0042-8833-2015-00003](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2015-00003)
14. Andreollo N.A., Santos E.F.D., Araújo M.R., Lopes L.R. Rat's age versus human's age: what is the relationship? // *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2012. Vol. 25, № 1. PP. 49–51. doi: [10.1590/S0102-67202012000100011](https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000100011)
15. Поворознюк В.В., Гопкалова И.В., Григорьева, Н.В. Особенности изменений минеральной плотности костной ткани у белых крыс линии Вистар в зависимости от возраста и пола // *Проблемы старения и долголетия*. 2011. Т. 20, № 4. С. 393–401.
16. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Бекетова Н.А., Переверзева О.Г., Кошелева О.В. Экспериментальная модель алиментарного полигиповитаминоза разной степени глубины у крыс // *Вопросы питания*. 2012. Т. 81, № 2. С. 51–56.

17. Cheng W.H., Martens K.M., Bashir A., Cheung H., Stukas S., Gibbs E., Namjoshi D.R., Button E.B., Wilkinson A., Barron C.J., Cashman N.R., Crompton P.A., Wellington C.L. CHIMERA repetitive mild traumatic brain injury induces chronic behavioural and neuropathological phenotypes in wild-type and APP/PS1 mice // *Alzheimers Res Ther.* 2019. Vol. 11, № 1. e6. doi: [10.1186/s13195-018-0461-0](https://doi.org/10.1186/s13195-018-0461-0)
18. Ingram D.K. 24 - Rodent models of age-related memory impairment. In: *Functional neurobiology of aging* / ed by P.R. Hof, C.V. Mobbs. Academic Press, 2001. PP. 373–386. doi: [10.1016/B978-012351830-9/50026-3](https://doi.org/10.1016/B978-012351830-9/50026-3)
19. Якушина Л.М., Бекетова Н.А., Бендер Е.Д., Харитончик Л.А. Использование методов ВЭЖХ для определения витаминов в биологических жидкостях и пищевых продуктах // *Вопросы питания.* 1993. № 1. С. 43–48.
20. Вржесинская О.А., Коденцова В.М., Спиричев В.Б., Алексеева И.А., Сокольников А.А. Оценка рибофлавинового статуса организма с помощью различных биохимических методов // *Вопросы питания.* 1994. Т. 63, № 6. С. 9–12.
21. Калувев А.В., Еремин К.О., Туохима П. Механизмы нейропротекторного действия витамина D3 // *Биохимия.* 2004. Т. 69, № 7. С. 907–911.
22. Reddy P., Edwards L.R. Magnesium supplementation in vitamin D deficiency // *American journal of therapeutics.* 2019. Vol. 26, № 1. PP. e124–e132. doi: [10.1097/MJT.0000000000000538](https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000538)
23. Cocco S., Diaz G., Stancampiano R., Diana A., Carta M., Curreli R., Sarais L., Fadda F. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats // *Neuroscience.* 2002. Vol. 115, № 2. PP. 475–482. doi: [10.1016/S0306-4522\(02\)00423-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00423-2)
24. Etchamendy N., Enderlin V., Marighetto A., Pallet V., Higuieret P., Jaffard R. Vitamin A deficiency and relational memory deficit in adult mice: relationships with changes in brain retinoid signalling // *Behavioural brain research.* 2003. Vol. 145, № 1–2. PP. 37–49. doi: [10.1016/S0166-4328\(03\)00099-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00099-8)
25. Bonnet E., Touyarot K., Alfos S., Pallet V., Higuieret P., Abrous D.N. Retinoic acid restores adult hippocampal neurogenesis and reverses spatial memory deficit in vitamin A deprived rats // *PLoS ONE.* 2008. Vol. 3, № 10. PP. e3487. doi: [10.1371/journal.pone.0003487](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003487)
26. Takatsu H., Owada K., Abe K., Nakano M., Urano S. Effect of vitamin E on learning and memory deficit in aged rats // *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2009. Vol. 55, № 5. PP. 389–393. doi: [10.3177/jnsv.55.389](https://doi.org/10.3177/jnsv.55.389)
27. de Freitas-Silva D.M., Resende L.de S., Pereira S.R., Franco G.C., Ribeiro A.M. Maternal thiamine restriction during lactation induces cognitive impairments and changes in glutamate and GABA concentrations in brain of rat offspring // *Behavioural brain research.* 2010. Vol. 211, № 1. PP. 33–40. doi: [10.1016/j.bbr.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.002)
28. Inozemtsev A.N., Berezhnoy D.S., Fedorova T.N., Stvolinsky S.L. The effect of the natural dipeptide carnosine on learning of rats under the conditions of negative reinforcement // *Doklady Biological Sciences.* 2014. Vol. 454, № 1. PP. 16–18. doi: [10.1134/S0012496614010177](https://doi.org/10.1134/S0012496614010177)
29. Kennedy D.O. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy – a review // *Nutrients.* 2016. Vol. 8, № 2. e68. doi: [10.3390/nu8020068](https://doi.org/10.3390/nu8020068)
30. Qin B., Xun P., Jacobs D.R. Jr., Zhu N., Daviglius M.L., Reis J.P., Reis J.P., Steffen L.M., Van Horn L., Sidney S., He K. Intake of niacin, folate, vitamin B-6, and vitamin B-12 through young adulthood and cognitive function in midlife: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study // *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2017. Vol. 106, № 4. PP. 1032–1040. doi: [10.3945/ajcn.117.157834](https://doi.org/10.3945/ajcn.117.157834)
31. Hassan Z., Coelho D., Kokten T., Alberto J.M., Umoret R., Daval J.L., Guéant J.L., Bossenmeyer-Pouricé C., Pouricé G. Brain susceptibility to methyl donor deficiency: from fetal programming to aging outcome in rats // *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20, № 22. e5692. doi: [10.3390/ijms20225692](https://doi.org/10.3390/ijms20225692)

32. Бережной Д.С., Бокиева С.Б., Стволинский С.Л., Фёдорова Т.Н., Иноземцев А.Н. Влияние карнозина на условную реакцию пассивного избегания в норме и в условиях гипоксии // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2015. № 3. С. 3–7.

*Поступила в редакцию 25.09.2019 г.; повторно 02.02.2021 г.;  
принята 27.05.2021 г.; опубликована 29.06.2021 г.*

**Авторский коллектив:**

**Сидорова Юлия Сергеевна**, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

E-mail: [sidorovaulia28@mail.ru](mailto:sidorovaulia28@mail.ru)

**Петров Никита Александрович**, аспирант, м.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9755-6002>

E-mail: [petrov-nikita-y@mail.ru](mailto:petrov-nikita-y@mail.ru)

**Вржесинская Оксана Александровна**, канд. биол. наук, в.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8973-8153>

E-mail: [vr.oksana@yandex.ru](mailto:vr.oksana@yandex.ru)

**Коденцова Вера Митрофановна**, д-р биол. наук, проф., г.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6052-3263>

E-mail: [kodentsova@ion.ru](mailto:kodentsova@ion.ru)

**Бекетова Нина Алексеевна**, канд. хим. наук, с.н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2810-2351>

E-mail: [beketova@ion.ru](mailto:beketova@ion.ru)

**Кошелева Ольга Васильевна**, н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2391-9880>

E-mail: [kosheleva@ion.ru](mailto:kosheleva@ion.ru)

**Леоненко Светлана Николаевна**, аспирант лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4220>

E-mail: [svetlanaleonenko6@gmail.com](mailto:svetlanaleonenko6@gmail.com)

**Зорин Сергей Николаевич**, канд. биол. наук, с.н.с. лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

E-mail: [zorin@ion.ru](mailto:zorin@ion.ru)

**Громовых Петр Сергеевич**, канд. хим. наук, н.с. лаборатории витаминов и минеральных веществ, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (Россия, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, д. 2/14).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3774-1868>

E-mail: [gromovykh@ion.ru](mailto:gromovykh@ion.ru)

**For citation:** Sidorova YuS, Petrov NA, Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Kosheleva OV, Leonenko SN, Zorin SN, Gromovyh PS. Influence of multiple deficiency of vitamins, calcium, magnesium and iodine on cognitive function in growing rats. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:64-82. doi: 10.17223/19988591/54/4 In Russian, English Summary

**Yuliia S. Sidorova, Nikita A. Petrov, Oksana A. Vrzhesinskaya,  
Vera M. Kodentsova, Nina A. Beketova, Olga V. Kosheleva,  
Svetlana N. Leonenko, Sergey N. Zorin, Petr S. Gromovyh**

*Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation*

### **Influence of multiple deficiency of vitamins, calcium, magnesium and iodine on cognitive function in growing rats**

Due to the prevalence of multiple deficiency of vitamins and some minerals among the population, as well as the role of micronutrients in maintaining cognitive functions, the aim of the research was to study the effect of combined deficit of vitamins and/or calcium, magnesium and iodine in the diet of growing Wistar male weaning rats on the manifestation of an unconditioned reflex and ability to learn in response to an electric shock.

Mice for the experiment were obtained from Stolbovaya nursery, Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Center of Biomedical Technologies of the Federal Medical-Biological Agency (Moscow region, Russia). After a 5-day feeding on a complete semi-synthetic diet, rats with an initial body weight of  $51.4 \pm 0.5$  g were randomly (according to body weight and the results of the "Elevated Plus Maze" test) divided into four groups (10-12 animals in each group). Subsequently, within 23 days, the animals of the control group (I) received a complete semi-synthetic diet, the rats of Group II (- Ca, Mg, I) were fed on the same diet, but with a 50% reduction in the amount of calcium, magnesium and iodine in the mineral mixture, the rats of Group III (- Vit) received a diet containing 100% of minerals with a reduced amount of vitamin mixture up to 20% with the complete elimination of vitamin E from it. The animals of Group IV (- Vit, Ca, Mg, I) were kept on a diet simultaneously deficient in vitamins and mineral substances. The manifestation of the unconditioned reflex was studied in the "Elevated plus maze" test before feeding the animals on experimental diets and on the 21<sup>st</sup> day of feeding. The behavior and memory of animals were evaluated in the test "Conditioned reflex of passive avoidance" on the 7<sup>th</sup> day of feeding on experimental diets in response to electrocutaneous irritation of paws (current 0.4 mA, not more than 8 sec.) when entering the dark compartment (development of a conditioned reflex), on the 8<sup>th</sup> day - a test of training (a memorable trace), and on the 21<sup>st</sup> day - an assessment of long-term memory. Pre-anesthetized with ether, the rats were taken out of the experiment by decapitation, and the content of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) was determined by HPLC, vitamins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> were measured fluorimetrically in the whole lyophilized brain.

In this research, we revealed, that throughout the experiment, the general condition of all animals (appearance and fur) and the body weight did not differ. Reducing the content of vitamins in the diet led to a significant decrease ( $p < 0.001$ ) in the brain content of selectively measured vitamins B<sub>1</sub> and E at the end of the experiment (See Table 1), that indicated the development of micronutrient deficiency in them. Micronutrient deficiencies for 21 days did not affect the degree of anxiety of the growing rats, assessed in the "Elevated Plus Maze" test. However, the rats from the groups deficient in vitamins (group - Vit and group - Vit, Ca, Mg and I) had a higher motor activity than the animals of the control group and the animals fed on a diet deficient in calcium, magnesium and iodine (group - Ca, Mg and I), which significantly less moved

through the maze (See Table 2). In this research, we found out that on the 7<sup>th</sup> day of the development of micronutrient deficiency in rats the reproduction of the unconditioned reflex (photophobia) worsened (See Fig. 1). In the rats with vitamin deficiency (group - Vit), the time spent in the open compartments increased 3.0 times compared to the control, whereas in the rats with mineral deficiency (group - Ca, Mg and I) and combined deficiency (group - Vit, Ca, Mg and I) it increased 1.85 and 1.95 times, correspondingly ( $p < 0.05$ ), while no differences were detected when playing a conditioned reflex 24 hours after training (See Fig. 1). In this research, a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in long-term memory have been discovered in the animals fed on a vitamin-deficient diet (group - Vit) and in the rats fed on a diet with simultaneously reduced levels of vitamins, calcium, magnesium and iodine (group - Vit, Ca, Mg and I). On the basis of the latent time of entry into the dark compartment after 24 hours and 2 weeks, we established that the memory deterioration was due to a decrease in the vitamin content in the diet, whereas the deficit of mineral substances did not affect these parameters (See Fig. 2). In this research, we revealed that multivitamin deficiency in rats exerted an amnesic effect and made a major contribution to impaired learning and long-term memory. This findings suggest the importance of adequate provision of the organism with all vitamins and mineral substances to maintain cognitive functions and memory.

*The paper contains 2 Figures, 2 Tables and 32 References.*

**Key words:** Multiple micronutrient deficiency; conditioned reflex of passive avoidance reflex; vitamins, minerals; long-term memory.

*The Authors declare no conflict of interest.*

### References

1. Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Risnik DV, Nikityuk DB, Tutelyan VA. Micronutrient status of population of the Russian Federation and possibility of its correction. State of the problem. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2017;86(4):113-124. doi: [10.24411/0042-8833-2017-00067](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2017-00067) In Russian, English Summary
2. Kodentsova VM, Beketova NA, Nikitjuk DB, Tutelyan VA. Characteristics of vitamin provision in the adult population of the Russian Federation. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2018;21(4):32-37. doi: [10.17116/profmed201821432](https://doi.org/10.17116/profmed201821432) In Russian, English Summary
3. Fenech M. Vitamins associated with brain aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer disease: biomarkers, epidemiological and experimental evidence, plausible mechanisms, and knowledge gaps. *Advances in Nutrition*. 2017;8(6):958-970. doi: [doi.org/10.3945/an.117.015610](https://doi.org/10.3945/an.117.015610)
4. Basheer MP, Kumar KP, Sreekumaran E, Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India. *Alexandria Journal of Medicine*. 2016;52(4):303-308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
5. Laughlin GA, Kritiz-Silverstein D, Bergstrom J, Reas ET, Jassal SK, Barrett-Connor E, McEvoy LK. Vitamin D insufficiency and cognitive function trajectories in older adults: the Rancho Bernardo Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;58(3):871-883. doi: [10.3233/JAD-161295](https://doi.org/10.3233/JAD-161295)
6. Taghizadeh M, Talaei SA, Salami M. Vitamin D deficiency impairs spatial learning in adult rats. *Iranian Biomedical Journal*. 2013;17(1):42-48.
7. Mao CT, Li TY, Liu YX, Qu P. Effects of marginal vitamin A deficiency and intervention on learning and memory in young rats. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2005;43(7):526-530.
8. Spasov AA, Bugayeva LI, Lebedeva SA, Bundikova TM. Study for the behavior, mnesic reactions, and pain sensitivity of female rats in the setting of an experimental magnesium deficit. *Pharmacy and Pharmacology*. 2015;(3, Supplement 1):104-105. In Russian
9. Bath SC, Combet E, Scully P, Zimmermann MB, Hampshire-Jones KH, Rayman MP.

- A multi-centre pilot study of iodine status in UK schoolchildren, aged 8-10 years. *European Journal of Nutrition*. 2016;55(6):2001-2009. doi: [10.1007/s00394-015-1014-y](https://doi.org/10.1007/s00394-015-1014-y)
10. Sun D, Codling K, Chang S, Zhang S, Shen H, Su X, Chen Z, Scherpbier RW, Yan J. Eliminating iodine deficiency in China: achievements, challenges and global implications. *Nutrients*. 2017;9(4):361. doi: [10.3390/nu9040361](https://doi.org/10.3390/nu9040361)
  11. Basheer MP, Pradeep Kumar KP, Sreekumaran E, Ramakrishna T. A study of serum magnesium, calcium and phosphorus level, and cognition in the elderly population of South India. *Alexandria Journal of Medicine*. 2016;52(4):303-308. doi: [10.1016/j.ajme.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ajme.2015.11.001)
  12. Troen AM, Shea-Budgell M, Shukitt-Hale B, Smith DE, Selhub J, Rosenberg IH. B-Vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(34):12474-12479. doi: [10.1073/pnas.0805350105](https://doi.org/10.1073/pnas.0805350105)
  13. Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Pereverzeva OG, Kosheleva OV, Sidorova YuS, Zorin SN, Mazo VK. Influence of combined vitamin deficiency on unconditioned reflexes and learning in growing rats. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2015;84(1):31-37. doi: [10.24411/0042-8833-2015-00003](https://doi.org/10.24411/0042-8833-2015-00003) In Russian, English Summary
  14. Andreollo NA, Santos EFD, Araújo MR, Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship? ABCD. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*. 2012;25(1):49-51. doi: [10.1590/S0102-67202012000100011](https://doi.org/10.1590/S0102-67202012000100011)
  15. Povoroznyuk VV, Gopkalova IV, Grygorieva NV. Peculiarities of changes in the mineral density of the osseous tissue of albino Wistar rats depending on age and gender. *Problemy starenija i dolgoletija = Problems of Aging and Longevity*. 2011;20(4):393-401. In Russian
  16. Vrzhesinskaya OA, Kodentsova VM, Beketova NA, Pereverzeva OG, Kosheleva OV. The experimental model of alimentary polyhypovitaminosis of different degree in rats. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 2012;81(2):51-56. In Russian, English Summary
  17. Cheng WH, Martens KM, Bashir A, Cheung H, Stukas S, Gibbs E, Namjoshi DR, Button EB, Wilkinson A, Barron CJ, Cashman NR, Crompton PA, Wellington CL. CHIMERA repetitive mild traumatic brain injury induces chronic behavioural and neuropathological phenotypes in wild-type and APP/PS1 mice. *Alzheimers Res Ther*. 2019;11(1):6. doi: [10.1186/s13195-018-0461-0](https://doi.org/10.1186/s13195-018-0461-0)
  18. Ingram DK. 24-Rodent models of age-related memory impairment. In: *Functional Neurobiology of Aging*. Hof PR and Mobbs CV, editors. Academic Press; 2001. pp. 373-386. doi: [10.1016/B978-012351830-9/50026-3](https://doi.org/10.1016/B978-012351830-9/50026-3)
  19. Yakushina LM, Beketova NA, Bender ED, Kharitonchik LA Methods of high-performance liquid chromatography for determining vitamin levels in biologic fluids and food products. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 1993;(1):43-48. In Russian
  20. Vrzhesinskaia OA, Kodentsova VM, Spirichev VB, Alekseeva IA, Sokolnikov AA. Comparative biochemical evaluation of riboflavin body status. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition*. 1994;63(6):9-12. In Russian
  21. Kalueff AV, Eremin KO, Tuohimaa P. Mechanisms of neuroprotective action of vitamin D3. *Biochemistry (Moscow)*. 2004;69(7):738-741. In Russian, English Summary
  22. Reddy P, Edwards LR. Magnesium supplementation in vitamin d deficiency. *American Journal of Therapeutics*. 2019;26(1):124-132. doi: [10.1097/MJT.0000000000000538](https://doi.org/10.1097/MJT.0000000000000538)
  23. Cocco S, Diaz G, Stancampiano R, Diana A, Carta M, Curreli R, Sarais L, Fadda F. Vitamin A deficiency produces spatial learning and memory impairment in rats. *Neuroscience*. 2002;115(2):475-482. doi: [10.1016/S0306-4522\(02\)00423-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00423-2)
  24. Etchamendy N, Enderlin V, Marighetto A, Pallet V, Higuieret P, Jaffard R. Vitamin A deficiency and relational memory deficit in adult mice: relationships with changes in brain retinoid signalling. *Behavioural Brain Research*. 2003;145(1-2):37-49. doi: [10.1016/S0166-4328\(03\)00099-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00099-8)
  25. Bonnet E, Touyarot K, Alfos S, Pallet V, Higuieret P, Abrous DN. Retinoic Acid Restores

- Adult Hippocampal Neurogenesis and Reverses Spatial Memory Deficit in Vitamin A Deprived Rats. *PLoS ONE*. 2008;3(10):3487. doi: [10.1371/journal.pone.0003487](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003487)
26. Takatsu H, Owada K, Abe K, Nakano M, Urano S. Effect of vitamin E on learning and memory deficit in aged rats. *The Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*. 2009;55(5):389-393. doi: [10.3177/jnsv.55.389](https://doi.org/10.3177/jnsv.55.389)
  27. de Freitas-Silva DM, Resende Lde S, Pereira SR, Franco GC, Ribeiro AM. Maternal thiamine restriction during lactation induces cognitive impairments and changes in glutamate and GABA concentrations in brain of rat offspring. *Behavioural Brain Research*. 2010;211(1):33-40. doi: [10.1016/j.bbr.2010.03.002](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.002)
  28. Inozemtsev AN, Berezhnoy DS, Fedorova TN, Stvolinsky SL. The effect of the natural dipeptide carnosine on learning of rats under the conditions of negative reinforcement. *Doklady Biological Sciences*. 2014;454(1):16-18. doi: [10.1134/S0012496614010177](https://doi.org/10.1134/S0012496614010177)
  29. Kennedy DO. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy - a review. *Nutrients*. 2016;8(2):e68. doi: [10.3390/nu8020068](https://doi.org/10.3390/nu8020068)
  30. Qin B, Xun P, Jacobs DR Jr, Zhu N, Daviglius ML, Reis JP, Reis JP, Steffen LM, Van Horn L, Sidney S, He K. Intake of niacin, folate, vitamin B-6, and vitamin B-12 through young adulthood and cognitive function in midlife: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2017;106(4):1032-1040. doi: [10.3945/ajcn.117.157834](https://doi.org/10.3945/ajcn.117.157834)
  31. Hassan Z, Coelho D, Kokten T, Alberto JM, Umoret R, Daval JL, Guéant JL, Bossenmeyer-Pourié C, Pourié G. Brain susceptibility to methyl donor deficiency: from fetal programming to aging outcome in rats. *International J Molecular Sciences*. 2019;20(22):5692. doi: [10.3390/ijms20225692](https://doi.org/10.3390/ijms20225692)
  32. Berezhnoy DS, Inozemtsev AN, Bokieva SB, Stvolinskii SL, Fedorova TN. Effect of carnosine on conditioned passive avoidance response in the norm and under hypoxia conditions. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*. 2015;70(3):105-109. doi: [10.3103/S0096392515030037](https://doi.org/10.3103/S0096392515030037)

Received 25 September 2019; Revised 02 February 2021;

Accepted 27 May 2021; Published 29 June 2021.

#### Author info:

**Sidorova Yuliia S**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-2168-2659>

E-mail: [sidorovaulia28@mail.ru](mailto:sidorovaulia28@mail.ru)

**Petrov Nikita A**, Graduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9755-6002>

E-mail: [petrov-nikita-y@mail.ru](mailto:petrov-nikita-y@mail.ru)

**Vrzhesinskaya Oksana A**, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-8973-8153>

E-mail: [vr.oksana@yandex.ru](mailto:vr.oksana@yandex.ru)

**Kodentsova Vera M**, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-6052-3263>

E-mail: [kodentsova@ion.ru](mailto:kodentsova@ion.ru)

**Beketova Nina A**, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240,

Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2810-2351>

E-mail: [beketova@ion.ru](mailto:beketova@ion.ru)

**Kosheleva Olga V**, Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0003-2391-9880>

E-mail: [kosheleva@ion.ru](mailto:kosheleva@ion.ru)

**Leonenko Svetlana N**, Graduate Student, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-0048-4220>

E-mail: [svetlanaleonenko6@gmail.com](mailto:svetlanaleonenko6@gmail.com)

**Zorin Sergey N**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Food Biotechnology and Specialized Products, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2689-6098>

E-mail: [zorin@ion.ru](mailto:zorin@ion.ru)

**Gromovyh Petr S**, Cand. Sci. (Chem.), Senior Researcher, Laboratory of Vitamins and Minerals, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, 2/14 Ustinsky Pr., Moscow 109240, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-3774-1868>

E-mail: [gromovykh@ion.ru](mailto:gromovykh@ion.ru)