

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616-092.9

Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н.

Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты при введении кормящим крысам модулируют поведение крысят, перенесших стрессирование путем многократного введения физиологического раствора в неонатальном периоде

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»,
125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) могут оказывать антидепрессивное, анксиолитическое и антистрессорное действие, однако данные противоречивы. Недавно на модели тревожно-депрессивного состояния, индуцированного неонатальным действием ингибитора дипептидилпептидазы IV дипротина А, мы показали, что омега-3 ПНЖК наряду с антидепрессивным действием также повышают тревожность у крысят опытной группы и нарушают эмоциональное поведение контрольных животных, подвергнутых многократному введению физиологического раствора (ФР). **Цель** работы — изучение влияния омега-3 ПНЖК при их введении кормящим крысам Вистар, на эмоционально-мотивационное поведение крысят, подвергнутых стрессогенной процедуре многократного введения ФР на 2-й — 3-й неделях постнатального развития, и интактных животных в динамике взросления. **Методика.** Омега-3 ПНЖК вводили крысам в период лактации перорально в дозе 0,3 г/кг в течение 28 дней. ФР вводили внутривентриально в период с 5-го по 18-й дни постнатального развития. Эмоционально-мотивационное поведение крыс оценивали с помощью общепринятых методов. **Результаты.** Омега-3 ПНЖК предотвращали появление признаков депрессивноподобного поведения и оказывали психостимулирующее действие на животных, перенесших стрессирование в раннем неонатальном периоде. Омега-3 ПНЖК также нормализовали вызванные стрессом нарушения социального взаимодействия неагрессивного характера у крыс подросткового возраста и взрослых животных, однако способствовали повышению агрессивности у взрослых интактных крыс. Независимо от факта стрессирования, омега-3 ПНЖК по разным показателям тревожности оказывали как анксиолитическое, так и анксиогенное действие на крыс-подростков, тогда как у взрослых животных обнаружено только их анксиогенное влияние. У стрессированных и интактных взрослых крыс омега-3 ПНЖК вызывали снижение ориентировочно-исследовательской активности. **Заключение.** Омега-3 ПНЖК в условиях их приема кормящими самками, оказывают как позитивное, так и негативное влияние на эмоционально-мотивационное поведение потомства, перенесшего в неонатальном периоде стрессирование путем многократного введения ФР. Эффекты омега-3 ПНЖК различаются у животных подросткового и взрослого возраста. Угнетающее действие на психомоторную активность и анксиогенное влияние омега-3 ПНЖК проявляется как у стрессированных, так и у интактных крыс, что следует учитывать при разработке подходов к терапии психоневрологических расстройств с использованием омега-3 ПНЖК.

Ключевые слова: омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты; стресс; многократное введение физиологического раствора; крысы.

Для цитирования: Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты при введении кормящим крысам модулируют поведение крысят, перенесших стрессирование путем многократного введения физиологического раствора в неонатальном периоде. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(3): 17–30. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.17-30

Для корреспонденции: Крупина Наталья Александровна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы, e-mail: krupina-nf@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Материалы статьи нигде ранее не публиковались.

Благодарность. Авторы выражают благодарность ведущему инженеру ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» В.М. Комкову за техническую поддержку исследования.

Поступила 13.02.2017

Krupina N.A., Khlebnikova N.N.

Omega-3 polyunsaturated fatty acids when administered to lactating rats modulate the behavior in rat pups exposed to neonatal stress induced by repeated saline administration

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», 125315 Moscow, Russia

Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) may exert antidepressant, anxiolytic and anti-stress effects, but the data are contradictory. Recently, using the model of experimental anxiety-depressive disorder caused by the neonatal action of an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV diprotin A, we have shown that omega-3 PUFAs along with an antidepressant effect also increase anxiety in the rat pups in the experimental group and disrupt emotional behavior in control animals subjected to repeated administration of saline. **The purpose** of this work was to study the effects of omega-3 PUFAs when administered to the lactating Wistar rats, on the emotional and motivational behavior of the rat pups exposed to the procedure of the repeated saline administration on second — third weeks of postnatal development and intact rats in the dynamics of growing up. **Methods.** Omega-3 PUFAs were administered to lactating rats at a dose 0.3 g/kg, per os, for 28 days. Saline was administered intraperitoneally on postnatal days 5-18. We assessed emotional and motivational behavior using conventional methods. **Results.** Omega-3 PUFAs prevented the appearance of the symptoms of depressive-like behavior and exerted a psycho stimulative effect on the animals that underwent stress in the early neonatal period. Omega-3 PUFAs also normalized stress-related impairment of social non-aggressive interaction in adolescent and adult rats but promoted increased aggression in adult intact rats. Regardless of whether the stress, omega-3 PUFAs exhibited both anxiolytic and anxiogenic effects for different anxiety indicators in adolescent rats, whereas in adult animals only anxiogenic effect was detected. In adult stressed and intact rats, omega-3 PUFAs caused a decrease in exploratory activity. **Conclusion.** Omega-3 PUFAs when administered to the lactating females, exert both positive and negative effects on the emotional and motivational behavior of the offspring, which underwent stress by repeated saline administration in the neonatal period. Omega-3 PUFAs action differs in adolescent and adult rats. The inhibitory effect on psychomotor activity and anxiogenic effects of omega-3 PUFAs appear in both stressed and intact rats that should be taken into account when developing approaches to the treatment of psycho-neurological disorders using omega-3 PUFAs.

Keywords: omega-3 polyunsaturated fatty acids; stress; repeated saline administration; rats.

For citation: Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Omega-3 polyunsaturated fatty acids when administered to lactating rats modulate the behavior in rat pups exposed to neonatal stress induced by repeated saline administration. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61 (3): 17—30 (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.17-30

For correspondence: Nataliya N. Krupina, Doctor of Biological Sciences, Principal Researcher, «Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology»; 8 Baltiyskaya Str., Moscow 125315, Russian Federation, e-mail: krupina-na@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Acknowledgments. We thank Mr. V.M. Komkov, a lead engineer from the «Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of General Pathology and Pathophysiology», Moscow, Russia, for technical support of the research.

Information about authors: Krupina N.A., <https://orcid.org/0000-0002-2462-899X>

Received 13.02.2017

Введение

По данным клинических исследований считается, что изменение активности сериновой пролинспецифической пептидазы — пролилэндопептидазы (ПЭП, Е.С. 3.4.21.26) в сыворотке крови может быть одним из патофизиологических механизмов развития тревожности, депрессивного состояния и стресса [1]. В эксперименте у мышей, нокаутных по гену, кодирующему ПЭП, выявлена повышенная тревожность в сочетании с гиперактивностью [2].

В наших исследованиях показано, что активность пролинспецифических пептидаз ПЭП и дипептидил-

пептидазы-IV (ДПП-IV) повышена в структурах мозга крыс с экспериментальным депрессивным синдромом, с экспериментально индуцированным «поведенческим отчаянием» и тревожно-депрессивным состоянием с повышенной агрессивностью, вызванным действием синтетического ингибитора ДПП-IV метионил-2(S)-диано-пирролидина в постнатальные дни (ПНД) 5—18, а синтетические ингибиторы ПЭП проявляют на этих моделях свойства антидепрессантов, нормализуя активность ПЭП и ДПП-IV [3—5].

Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) также являются ингибиторами ПЭП [6].

Недавно на разработанной в наших исследованиях новой модели тревожно-депрессивного состояния с повышенной агрессивностью, индуцированного неонатальным действием ингибитора ДПП-IV трипептида дипротина А [7], мы показали, что омега-3 ПНЖК в условиях их перорального введения кормящим самкам оказывают психостимулирующее действие на крысят как опытной (неонатальное введение дипротина А), так и контрольной групп (неонатальное введение физиологического раствора, ФР) и способствуют формированию у них антидепрессивного фенотипа [8], что принципиально согласуется с данными зарубежных авторов о наличии антидепрессантных свойств у омега-3 ПНЖК [9—10]. Однако мы также обнаружили, что омега-3 ПНЖК, не снижая агрессивность крысят опытной группы со смешанными эмоционально-мотивационными нарушениями, уменьшали неагрессивное социальное взаимодействие и увеличивали агрессивность и тревожность у крысят контрольной группы подросткового возраста (1 мес.), которым в 5—18-й ПНД вводили ФР [8]. В подавляющем большинстве работ в качестве патогенного фактора, приводящего к росту поведенческих индексов тревоги, депрессии и агрессии, рассматривается дефицит ПНЖК в период раннего онтогенеза [см. обзор 11]. Наши исследования на модели тревожно-депрессивного состояния с повышенной агрессивностью, индуцированного неонатальным действием ингибитора ДПП-IV, были проведены в условиях, когда дефицит ПНЖК был исключен. Напротив, самки получали ПНЖК в период лактации, а известно, что прием ПНЖК беременными и кормящими самками крыс сопровождается увеличением уровня этих кислот в развивающемся мозге крысят [12].

Полученные в наших исследованиях противоречивые данные о том, что включение омега-3 ПНЖК в диету кормящих самок может иметь негативные последствия, проявляющиеся нарушениями эмоционально-мотивационного поведения детенышей, представляли особый интерес в связи с тем, что омега-3 ПНЖК, как показано в многочисленных исследованиях, играют важную роль в функционировании организма на протяжении всей жизни — от младенчества до старости [13, 14] и, помимо антидепрессивного, могут оказывать также анксиолитическое действие [9, 15].

Дефицит омега-3 ПНЖК в пище приводит к развитию состояния хронического стресса, что проявляется нарушением сигнального пути, опосредуемого глюкокортикоидными рецепторами, и гиперактивацией гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси (ГГА-оси) [10]. В условиях стрессирования омега-3 ПНЖК предотвращают эмоционально-мотивационные нарушения у крыс, вызванные разными типами стресса, например, стрессом ограничения [16], «пси-

хологическим» стрессом в приподнятом крестообразном лабиринте и стрессом условного страха при помешении животных в камеру, в которой ранее они подвергались удару электрического тока [17], стрессом социальной угрозы [10]. Однако в ряде исследований стресс-протективное действие омега-3 ПНЖК на поведение не подтверждается. Например, на модели градуального физиологического стресса, вызванного действием синтетического препарата дезоксикортикостерона ацетата — агониста минералокортикоидов, обладающего свойствами естественного гормона надпочечников, обнаружена неэффективность омега-3 ПНЖК в предотвращении стресс-индуцированной тревожности [18]. По мнению авторов, полученные ими данные свидетельствуют в пользу предположения о том, что стресс-протективный эффект омега-3 ПНЖК выражен в случае более тяжелого стресса.

В наших исследованиях на модели тревожно-депрессивного состояния с повышенной агрессивностью, индуцированного неонатальным действием ингибитора ДПП-IV трипептида дипротина А, были обнаружены признаки нарушения эмоционального поведения у крыс контрольной группы, которым в раннем постнатальном периоде многократно вводили ФР [8]. Такое воздействие является стрессогенным, так как показано, что даже однократное введение ФР приводит к высвобождению серотонина в медиальном ядре шва, подобно действию других известных стрессоров, хотя при каждом из них паттерн структур мозга, в которых происходит стрессогенное высвобождение серотонина, различен [19]. Многократное введение ФР вызывает нейропластические изменения в параганглионарной клеточной популяции в верхнем шейном ганглии крыс, отражающие действие стрессогенной процедуры повторного инъектирования [20]. Инъекция ФР служила стрессором для крысят, на 1 сут. отлученных от матери, и вызывала повышение уровня кортикостерона в плазме крови [21].

Цель исследования — изучение эффектов омега-3 ПНЖК в условиях их приема кормящими крысами-самками на эмоционально-мотивационное поведение крысят, подвергнутых в раннем онтогенезе стрессогенной процедуре многократного введения ФР, и интактных животных в динамике взросления.

Методика

Работа проведена на 43 крысах-самцах, рожденных от 8 крыс-самок популяции Вистар, выращенных в питомнике ФГБНУ «НИИОПП». Все процедуры проводили в соответствии с Директивой ЕС о защите животных, используемых в научных целях — EU Directive 2010/63/EU, принятой 22 сентября 2010 г. (DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL on the protection of animals used for scien-

tific purposes), «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 708н от 23.08.2010 г., и под контролем Этического комитета ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

Крысам-самкам на следующий день после родов оставляли по 4—6 детенышей мужского пола, в число которых входили как собственные крысята, так и крысята из пометов двух-трех других самок. Крыс содержали в стандартных условиях вивария с естественной сменой освещенности при свободном доступе к пище и воде. День родов считали нулевым ПНД. Начиная со следующего дня, кормящие самки опытной группы в течение 28 сут., вдобавок к стандартному рациону, получали раствор омега-3 ПНЖК перорально, один раз в сутки, в дозе 0,3 г/кг (препарат ОМАКОР, производитель — Баннер Фармакапс Юроп Б.В., Нидерланды, выпускающий контроль качества — Abbott Products GmbH, Германия; содержит омега-3 ПНЖК: этиловый эфир эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК) и этиловый эфир докозагексаеновой кислоты (ДГК) в соотношении 1,2:1, а также альфа-токоферол). Доза омега-3 ПНЖК, также как и в работе на модели тревожно-депрессивного состояния, индуцированного неонатальным действием дипротина А [8], соответствовала дозе 2,8 г для человека весом 60 кг, что входит в диапазон доз, рекомендованных для клинического применения в психиатрии [9]. Для достижения требуемого объема препарат разводили в подсолнечном масле (ПМ) марки «Олейна», в состав которого входят насыщенные жирные кислоты и витамин Е. Контрольные самки для поддержания состава и калорийности дневного рациона получали по той же схеме в том же объеме ПМ, обогащенное альфа-токоферолом для достижения дозы витамина Е, соответствовавшей дозе, которую получали самки опытной группы. Половине детенышей опытной и контрольной групп в период с 5-го по 18-й ПНД включительно внутрибрюшинно вводили ФР (стрессированные крысы), а оставшихся крысят не подвергали никаким дополнительным воздействиям (интактные крысы, ИНТ). На 29-й день после рождения крысят отделяли от матерей и помещали в клетки, сохраняя состав группы детенышей, выращенных каждой самкой. Были сформированы 4 группы крыс: «ПМ + ФР» ($n = 12$), «ПМ + ИНТ» ($n = 11$), «Омега-3 ПНЖК + ФР» ($n = 10$), «Омега-3 + ИНТ» ($n = 10$). Исследование поведения проводили у животных в возрасте 1 и 2 мес.

1.1. Оценка ориентировочно-исследовательской активности

Двигательную (горизонтальную) и исследовательскую (вертикальную) активность крыс оценивали в тесте автоматизированного «открытого поля» в сис-

теме «Opto-Varimex» («Columbus Instruments», США) по специализированной программе «Auto-Track» (принцип измерения — оценка изменений активности животных по пересечению ими лучей инфракрасных датчиков). Тестирование проводили в звукоизолированной комнате с уровнем освещенности 42 люкса в течение 10 мин. Оценивали двигательную активность по длине пройденного пути в см, исследовательскую — по числу стоек. После каждого тестирования клетки тщательно мыли и проводили дезодорацию раствором этилового спирта.

1.2. Оценка уровня тревожности

Исследование уровня тревожности крыс в поднятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) проводили с помощью системы видеотрекинга VideoMot2 для автоматической видеорегистрации и анализа поведения грызунов — VideoMot2 with Elevated Plus Maze с программным обеспечением для черно-белой версии и параллельной записью цифрового видео по каждому животному на жесткий диск ПК в ходе эксперимента (TSE Systems GmbH, Germany).

Лабиринт из черного непрозрачного поливинилхлорида расположен на высоте 70 см от пола, имеет 2 открытых (не имеющих стенок) рукава (42 x 14 см) (ОР) и 2 закрытых стенками рукава (42 x 14 x 22 см) (ЗР), перпендикулярных друг другу, площадка в центре (Ц) имеет размеры 14 x 14 см; ОР имеют низкие бортики (1 см) для предотвращения падения животного. Обследование проводили при приглушенном верхнем свете, освещенность в центре лабиринта составляла 29 лк, в ОР — 36 лк, в ЗР — 2 лк. Крысу сажали в центр лабиринта мордой в сторону ОР, длительность тестирования составляла 5 мин. В режиме автоматической видеорегистрации оценивали поведение животного по следующим параметрам для ОР и ЗР: время (мс), пробег (см), число посещений; также оценивали общий пробег в ПКЛ (ОР+ЗР) (см) и среднюю скорость перемещения (см/с); предпочтение ОР рассчитывали как долю посещений ОР от суммарного числа заходов в ОР и ЗР (%). Во время тестирования в ПКЛ, как описано ранее [8], дополнительно фиксировали число, длительность (мс) и латентность (мс) вертикальных стоек, свешиваний из ОР (характеристика тревожности: чем больше свешиваний, тем менее тревожно животное), а также эпизодов груминга.

Кроме того, оценивали число и длительность колебаний при переходе животного из темного закрытого отсека лабиринта в открытый, а также латентный период колебаний. Колебанием считали незавершенный выход в другой отсек, когда крыса высывала голову, как минимум, до линии ушей, а затем быстро отступала назад.

1.3. Оценка депрессивноподобного поведения

Оценку поведения крыс в тесте принудительного плавания проводили по модифицированному методу Порсолта [8] путем однократного помещения животного в цилиндрический пластмассовый бак (высота 47 см, внутренний диаметр 35 см), заполненный водой на высоту 35 см, температура воды составляла 25—26°C. В течение 10 мин фиксировали число и длительность периодов активного плавания (энергичные движения всеми лапами с активным перемещением и/или попыткой выбраться), пассивного плавания (слабые гребки одной-двумя лапами, необходимые для поддержания тела на плаву) и иммобильности (отсутствие плавательных движений). Рассчитывали ритмологический индекс депрессивности (ИД), определяемый отношением числа самых коротких периодов иммобильности (до 6 с) к общему числу периодов активного плавания.

1.4. Оценка зоосоциального взаимодействия

Социальное взаимодействие оценивали в незнакомой крысам клетке из плексигласа (37,0 x 57,0 x 19,0 см) при красном свете; освещенность над центром клетки составляла 7 лк. По схеме эксперимента крысы в течение 2—3 дней до тестирования находились в клетках поодиночке. В течение 15 мин теста оценивали частоту и длительность активных неагрессивных и агрессивных социальных контактов. К активным неагрессивным социальным контактам относили обнюхивание, социальный груминг, залезание под или налезание на партнера, преследование, не заканчивавшееся проявлением агрессии. К агрессивным контактам относили преследование, переходящее в агрессивное взаимодействие, атаки/драки, укусы, агрессивный груминг (выкусывание/выгрызание шерсти партнера). Для характеристики взаимодействия использовали показатели латентности, суммарного числа и времени активных неагрессивных и агрессивных контактов.

Оценивали поведение в парах, состоявших из животных одной группы, не знакомых друг с другом. Различия в весе составляло не более 10—15%. После каждой пары клетку тщательно мыли и проводили дезодорацию этиловым спиртом.

1.5. Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку данных проводили по алгоритмам программы «STATISTICA For Windows 7.0». По результатам предварительной проверки гипотезы о нормальном характере распределения данных по тестам Колмогорова—Смирнова и Лиллиефорса в случае, если гипотезу не отклоняли, применяли параметрические методы анализа, если гипотезу отклоняли — не-

параметрические методы. В работе использовали параметрический непарный *t*-критерий Стьюдента и непараметрический непарный *U*-критерий Манна—Уитни для независимых переменных. Принятый уровень значимости составлял 5%. Если достигнутый уровень статистической значимости превышал критическое значение, принималась нулевая гипотеза. Данные представлены в виде $M \pm S.E.M$, где M — среднее, $S.E.M$ — стандартная ошибка среднего.

Результаты исследования

У стрессированных крысят в группе «ПМ+ФР» вес был ниже, чем в группе «ПМ+ИНТ» (рис. 1), то есть стрессирование в раннем постнатальном периоде приводило к задержке в наборе веса у крысят подросткового возраста. Омега-3 ПНЖК, напротив, увеличивали вес у ИНТ крысят: в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» вес крысят в возрасте 1 мес. был выше, чем в группе «ПМ+ИНТ». Вес крысят в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» не отличался от веса животных в группе «ПМ+ФР» и был ниже, чем в группе «Омега-3+ИНТ». Таким образом, омега-3 ПНЖК не предотвращали задержку в наборе веса, вызванную стрессированием. У крысят, достигших возраста двух месяцев, изменений в весе ни в одной из групп не наблюдали.

2.1. Ориентировочно-исследовательская активность

Омега-3 ПНЖК и стрессирование не оказывали влияния на двигательную и исследовательскую активность крысят в возрасте 1 мес. (рис. 2). У крысят, достигших двухмесячного возраста, не наблюдали заметных последствий раннего стрессирования по данным показателям, однако в группе «ПМ+ФР» была отмечена тен-

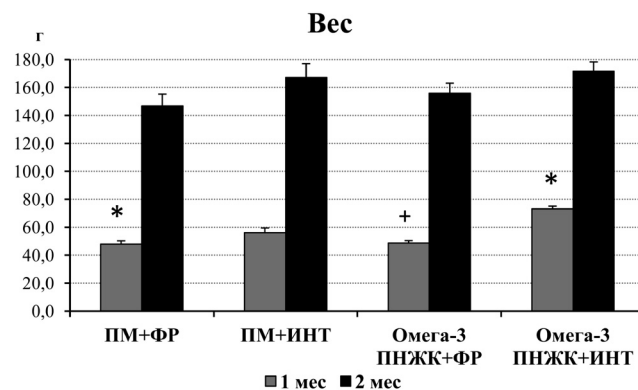


Рис. 1. Вес крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. * по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ», $p < 0,05$; + по сравнению с группой «Омега-3 ПНЖК+ИНТ», $p < 0,05$. Сравнение по непарному параметрическому *t*-критерию Стьюдента.

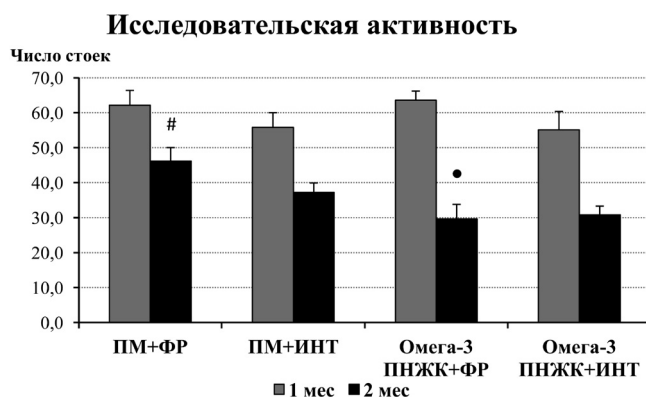
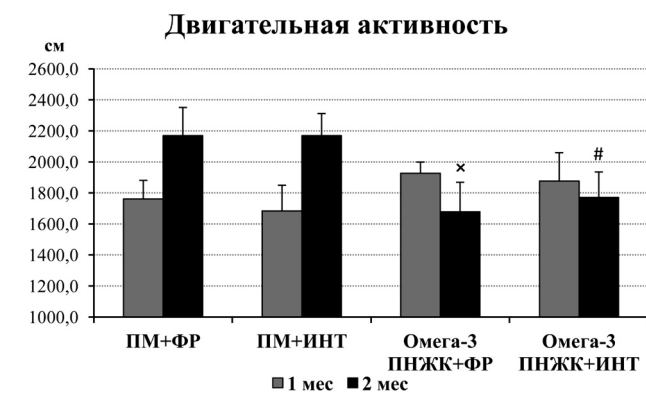


Рис. 2. Двигательная и исследовательская активность крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. # по сравнению с группой «ПМ+ИНТ», $p < 0,08$; • по сравнению с группой «ПМ+ФР», $p < 0,05$; x по сравнению с группой «ПМ+ФР», $p < 0,08$. Сравнение по непарному параметрическому t-критерию Стьюдента.

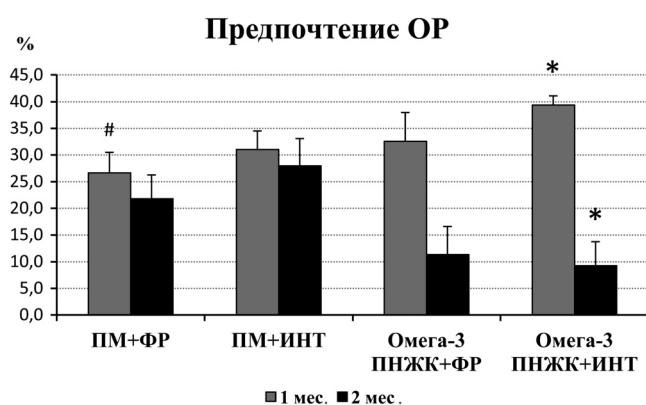


Рис. 3. Предпочтение открытых рукавов в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. * по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ», $p < 0,05$. Сравнение по непарному непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

денция к увеличению числа стоек по сравнению с группой «ПМ+ИНТ». Действие омега-3 ПНЖК в период вскармливания проявлялось у взрослых ИНТ крыс выраженной тенденцией к снижению локомоций по сравнению с группой «ПМ+ИНТ», то есть, тенденцией к ухудшению показателей психомоторной активности. У стрессированных крыс в группе «Омега-3+ФР» по сравнению с группой «ПМ+ФР» были выявлены тенденция к уменьшению двигательной активности и статистически значимое снижение исследовательской активности, что подтверждает наличие у омега-3 ПНЖК, полученных с молоком матери, тормозящего влияния на ориентировочно-исследовательскую деятельность.

2.2. Уровень тревожности

Стрессирование само по себе несколько повышало тревожность у животных подросткового возраста: в группе «ПМ+ФР» по сравнению с группой «ПМ+ИНТ» была выявлена выраженная тенденция к снижению предпочтения ОР ($p < 0,08$) (рис. 3). На фоне приема омега-3 ПНЖК с молоком матери у стрессированных крысят не проявлялась тенденция к снижению предпочтения ОР, а в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» статистически значимо возрастало предпочтение ОР по сравнению с группой «ПМ+ИНТ». Таким образом, по показателю предпочтения ОР омега-3 ПНЖК проявляли анксиолитическое действие и предотвращали негативное влияние раннего стрессирования на уровень тревожности у животных в возрасте 1 мес. Наряду с этим, в группе «Омега-3+ИНТ» увеличивалось число и длительность колебаний при переходах из темных отсеков лабиринта на открытые пространства (рис. 4), что может отражать анксиогенное действие омега-3 ПНЖК. У стрессированных животных подросткового возраста в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» пробег в ЗР был больше, чем в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» (табл. 1). У крысят группы «Омега-3 ПНЖК+ФР», подобно группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ», возрастало число колебаний при исследовании в ПКЛ и в тенденции возрастала их длительность (рис. 4). Также в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» латентный период первого колебания был снижен по сравнению с группой «ПМ+ФР»: соответственно $76455,1 \pm 20471,0$ мс и $176390,2 \pm 32897,7$ мс, $p < 0,05$). У одномесячных крысят ни в одной из групп не выявлено отличий в величине общего пробега и средней скорости перемещения в ПКЛ (табл. 1).

Таким образом, у ИНТ крысят подросткового возраста, принимавших омега-3 ПНЖК с молоком матери, просматривалось анксиолитическое действие омега-3 ПНЖК по одним показателям (по увеличению предпочтения ОР) и анксиогенное — по другим (по увеличению выраженности колебаний), тогда как у стрессированных крысят, принимавших омега-3

ПНЖК, выявлялось их защитное антистрессорное (по сути, анксиолитическое) действие (по предотвращению вызванного стрессированием снижения предпочтения ОР) и так же, как в группе «Омега-3+ИНТ», анксиогенное действие (по увеличению выраженности колебаний).

По достижении двухмесячного возраста у крысят в группах «ПМ+ИНТ» и «ПМ+ФР» не было выявлено различий в ПКЛ, то есть не обнаружено по-

следствий действия раннего стрессирования длительным введением ФР. У ИНТ и стрессированных взрослых животных прием омега-3 ПНЖК с молоком матери приводил к возрастанию тревожности по всем показателям: в группах «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» и «Омега-3 ПНЖК+ФР» время пребывания в ОР, число выходов в ОР и пробег в ОР были снижены, а время пребывания в ЗР, напротив, увеличено по сравнению с величинами пока-

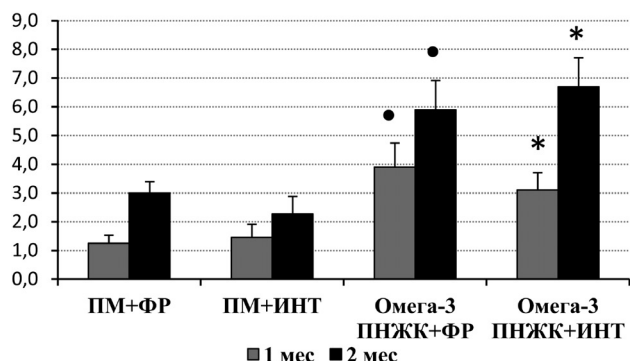
Таблица 1

Показатели тревожности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у крыс, подвергнутых действию физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации

Группа	Возраст (число крыс)	ОР, время (мс)	ОР, посещения (число)	ОР, пробег (см)	ЗР, время (мс)	ЗР, посещения (число)	ЗР, пробег (см)	Общий пробег (см)	Средняя скорость перемещения (см/с)
ПМ +ФР	1 мес. (n = 12)	39090,8 ± 7704,3	3,8 ± 0,6	282,7 ± 53,3 #	172751,7 ± 14044,1	10,0 ± 0,8	1196,2 ± 95,2	2070,2 ± 121,3	6,9 ± 0,4
	2 мес. (n = 12)	24591,3 ± 5367,4	2,8 ± 0,7	195,5 ± 44,7	210050,6 ± 12124,6	8,8 ± 1,1	993,8 ± 41,2	1726,5 ± 118,6	5,8 ± 0,4
ПМ + ИНТ	1 мес. (n = 11)	49222,6 ± 10741,3	4,5 ± 0,7	411,6 ± 80,0	181907,6 ± 15862,1	9,5 ± 0,9	1055,7 ± 56,5	2023,0 ± 138,7	6,7 ± 0,5
	2 мес. (n = 11)	31826,4 ± 8769,2	3,9 ± 1,1	294,1 ± 81,4	199074,2 ± 18976,1	8,1 ± 1,1	986,1 ± 44,9	1801,0 ± 167,2	6,0 ± 0,6
Оме-га-3 ПНЖК + ФР	1 мес. (n = 10)	60740,9 ± 11344,3	4,8 ± 1,0	478,5 ± 91,0 x	164549,2 ± 14556,8	8,4 ± 0,5	1245,2 ± 44,3 +	2248,7 ± 121,7	7,5 ± 0,4
	2 мес. (n = 10)	6028,2 ± 2725,6 •	0,8 ± 0,4 •	57,9 ± 29,0 •	258950,0 ± 7600,9 ••	5,8 ± 0,9 •	1076,6 ± 48,3	1428,0 ± 92,9 •	4,8 ± 0,3 •
Оме-га-3 ПНЖК + ИНТ	1 мес. (n = 10)	55793,7 ± 7094,8	6,1 ± 0,9	475,8 ± 75,2	157116,8 ± 14226,7	9,2 ± 0,9	1033,7 ± 66,0	2168,3 ± 134,6	7,2 ± 0,5
	2 мес. (n = 10)	3088,3 ± 1785,4 **	0,5 ± 0,2 **	31,2 ± 18,8 **	265925,3 ± 7800,2 **	4,9 ± 1,1 *	1222,9 ± 96,8 #	1458,5 ± 126,0	4,9 ± 0,4

Примечание. * p<0,05; ** p<0,01; # p<0,09 — по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ»; • p<0,05; •• p<0,01; x p<0,08 — по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ФР»; + p<0,05 — по сравнению со значением показателя в группе «Омега-3+ИНТ». Сравнения проведены с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна—Уитни

Число колебаний



Длительность колебаний

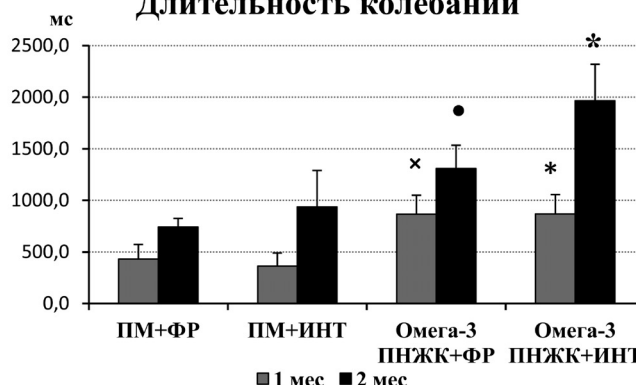


Рис. 4. Характеристика колебаний при исследовании «Приподнятого крестообразного лабиринта» у крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. * по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ», p<0,05; • по сравнению с группой «ПМ+ФР», p<0,05; x по сравнению с группой «ПМ+ФР», p<0,08. Сравнение по непарному непараметрическому U-критерию Манна—Уитни.

зателей в группах «ПМ+ИНТ» и «ПМ+ФР», соответственно (табл. 1). У крыс в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» была также выявлена тенденция к превышению величины пробега в ЗР по сравнению с крысами из группы «ПМ+ИНТ». В обеих группах животных, получавших омега-3 ПНЖК с молоком матери, было снижено число посещений ЗР, что может быть связано с общим снижением двигательной активности у взрослых крыс (рис. 2). У стрессированных крыс в группе «Омега-3+ФР» общий пробег и скорость перемещения в ПКЛ были статистически значимо ниже, чем в группе «ПМ+ФР», тогда как в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» снижение этих показателей в сравнении с группой «ПМ+ИНТ» не достигло уровня статистической значимости (табл. 1). По результатам обследования в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» было обнаружено статистически значимое снижение предпочтения ОР (рис. 3); в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» просматриваемое снижение предпочтения ОР не достигло уровня статистической значимости ($p = 0,123$). На этой стадии онтогенеза число и длительность колебаний в группах крыс «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» и «Омега-3 ПНЖК+ФР» были увеличены по сравнению с величинами данных показателей соответственно в группах «ПМ+ИНТ» и «ПМ+ФР» (рис. 4), а латентный период колебаний, напротив, был статистически значимо снижен и составил в группах «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» и «ПМ+ИНТ» соответственно $24413,6 \pm 2419,6$ мс и $106523,4 \pm 26062,6$ ($p < 0,05$), в группах «Омега-3 ПНЖК+ФР» и «ПМ+ФР», соответственно, $23537,7 \pm 3508,46$ мс и $80638,5 \pm 15880,79$ мс ($p < 0,001$). Данные свидетельствуют о росте уровня тревожности у взрослых крыс, получавших омега-3 ПНЖК с молоком матери, независимо от того, были ли животные подверг-

нуты мягкому стрессированию в раннем постнатальном периоде.

У крыс подросткового возраста не обнаружено различий между группами по числу, длительности и латентному периоду появления вертикальных стоек, свешиваний из ОР и эпизодов груминга в ПКЛ.

У взрослых двухмесячных крыс число стоек, их длительность и латентный период появления ни в одной из групп не различались, за исключением тенденции к снижению длительности стоек в группе «Омега-3+ФР» по сравнению с группой «Омега-3+ИНТ» (соответственно $12117,1 \pm 2024,6$ мс и $17622,5 \pm 2156,8$ мс, $p = 0,089$), что, в целом, свидетельствовало об отсутствии нарушений вертикальной исследовательской активности в ПКЛ. По показателям поведения оценок риска (свешиваний из ОР) и эмоциональной напряженности (груминга) стрессированные крысы группы «ПМ+ФР» не отличались от крыс группы «ПМ+ИНТ», то есть последствий стрессирования как такового по этим показателям не было выявлено.

У взрослых крыс, получавших омега-3 ПНЖК с молоком матери, стрессирование (группа «Омега-3 ПНЖК+ФР») сопровождалось увеличением числа эпизодов груминга и снижением латентного периода его появления по сравнению с ИНТ крысами (группа «Омега-3 ПНЖК+ИНТ») (табл. 2), то есть омега-3 ПНЖК вызывали повышение эмоционального напряжения у взрослых крыс, перенесших стрессирование в неонатальном периоде. В группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» по сравнению с группой «ПМ+ФР» в тенденции было увеличено число эпизодов груминга и статистически значимо снижен латентный период его появления; было выражено снижение числа и длительности свешиваний (табл. 2), что свидетельствовало о повышении уров-

Таблица 2

Характеристика эмоционального напряжения и поведения оценок риска в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у двухмесячных крыс, подвергнутых действию физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации

Группа	Груминг, число эпизодов	Груминг, длительность (мс)	Груминг, латентный период (мс)	Свешивания из ОР, число	Свешивания из ОР, длительность (мс)	Свешивания из ОР, латентный период (мс)
ПМ +ФР	$3,8 \pm 1,0$	$14805,2 \pm 6057,4$	$83956,8 \pm 18106,5$	$6,1 \pm 1,2$	$6170,3 \pm 1470,5$	$55971,9 \pm 32192,1$
ПМ + ИНТ	$2,7 \pm 0,7$	$23869,8 \pm 8352,3$	$109185,8 \pm 10104,1$	$6,8 \pm 1,9$	$7535,9 \pm 2924,2$	$21568,7 \pm 10084,3$
Омега-3 ПНЖК + ФР	$6,7 \pm 1,2$ +x	$36558,4 \pm 12313,6$	$37658,7 \pm 5245,2$ ++ •	$0,8 \pm 0,4$ ••	$552,2 \pm 272,7$ ••	$36363,8 \pm 29231,8$
Омега-3 ПНЖК + ИНТ	$3,5 \pm 0,7$	$16004,6 \pm 6430,0$	$133483,9 \pm 26693,6$	$0,2 \pm 0,1$ **	$156,2 \pm 107,5$ **	$123615,0 \pm 115682,0$

Примечание. ** $p < 0,01$ — по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ», • $p < 0,05$; •• $p < 0,01$; x $p < 0,08$ — по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ФР»; + $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$ — по сравнению со значением показателя в группе «Омега-3+ИНТ». Сравнения проведены с использованием непарного непараметрического U-критерия Манна—Уитни.

ня тревожности у этих животных на фоне эмоциональной напряженности. В группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» в сравнении с группой «ПМ+ИНТ» были снижены число свешиваний и их длительность (табл. 2), то есть омега-3 ПНЖК изменяли поведение оценок риска, повышая уровень тревожности у ИНТ крыс.

2.3. Депрессивноподобное поведение.

Тест принудительного плавания

Раннее стрессирование оказывало продепрессивное действие на крысят в возрасте 1 мес., увеличивая число кратких периодов иммобильности: в группе «ПМ+ФР» число периодов иммобильности было больше, чем в группе «ПМ+ИНТ» ($p = 0,09$) (рис. 5). В группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» число периодов иммобильности, суммарная длительность иммобильности и индекс депрессивности (в тенденции) были меньше, чем, в группе «ПМ+ФР», то есть омега-3 ПНЖК проявляли свойства антидепрессантов, предотвращая продепрессивное действие мягкого стресса. Различий в характеристиках плавательного поведения между группами крысят «ПМ+ИНТ» и «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» не выявлено, что свидетельствует об отсутствии влияния омега-3 ПНЖК на поведение ИНТ крысят подросткового возраста в тесте принудительного плавания.

Омега-3 ПНЖК оказывали также психостимулирующее действие на стрессированных животных, увеличивая в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» среднюю длительность периодов активного плавания по сравнению с группами «ПМ+ФР» и «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» при сокращении числа таких периодов.

У крысят, достигших двухмесячного возраста, в тесте принудительного плавания не было обнаружено влияния омега-3 ПНЖК либо стрессирования как таковых. Однако у стрессированных животных омега-3 ПНЖК по-прежнему проявляли антидепрессивное и психостимулирующее действие: в группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» длительность пассивного плавания была снижена по сравнению с величиной данного показателя в группе «ПМ+ФР», а средняя длительность периодов активного плавания — увеличена по сравнению с группой «Омега-3+ИНТ».

2.4. Зоосоциальное взаимодействие

Стрессирование приводило к реструктуризации активного неагрессивного взаимодействия у крыс подросткового возраста: в группе «ПМ+ФР» по сравнению с группой «ПМ+ИНТ» число активных контактов (исключая груминг) было снижено, а число

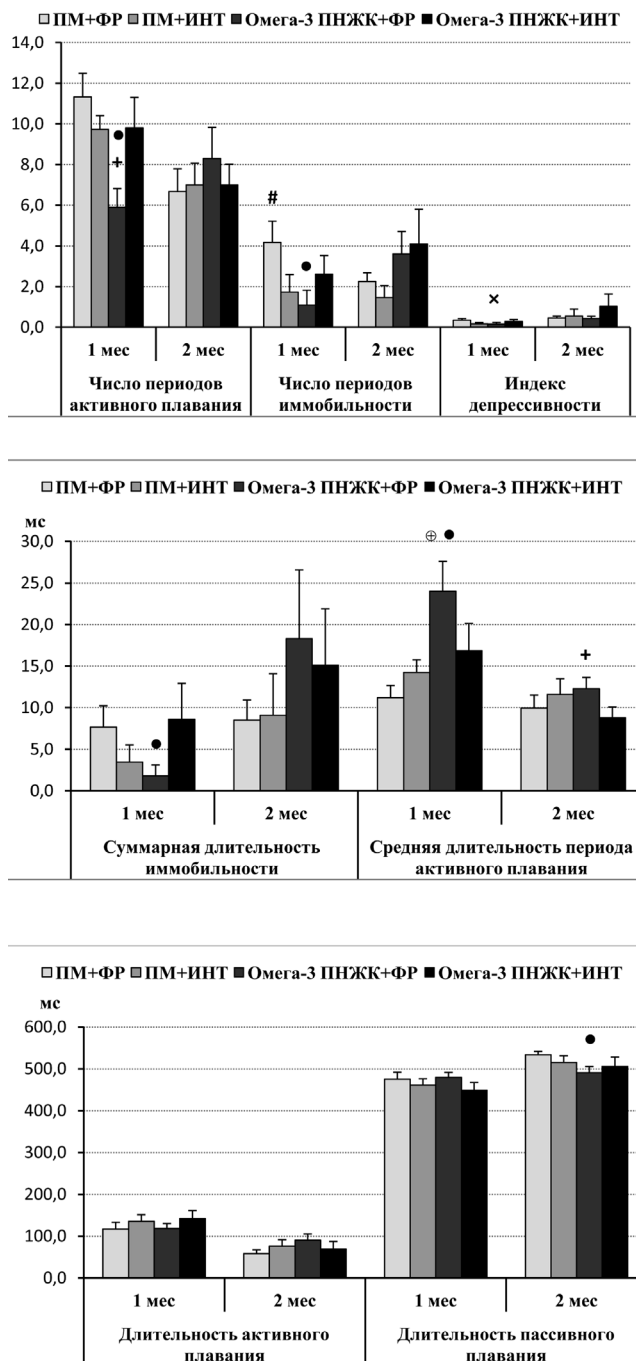


Рис. 5. Показатели поведения в тесте принудительного плавания у крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. # по сравнению с группой «ПМ+ИНТ», $p \leq 0,09$; • по сравнению с группой «ПМ+ФР», $p < 0,05$; x по сравнению с группой «ПМ+ФР», $p \leq 0,09$; + по сравнению с группой «Омега-3 ПНЖК+ИНТ», $p < 0,05$; ⊕ по сравнению с группой «Омега-3 ПНЖК+ИНТ», $p \leq 0,09$. Сравнение по непарному непараметрическому U-критерию Манна–Уитни.

эпизодов социального груминга, напротив, увеличено (рис. 6) без изменения общего числа неагрессивных контактов. Омега-3 ПНЖК сами по себе уменьшали число активных неагрессивных социальных контактов у ИНТ крыс подросткового возраста, не изменяя длительности таких контактов: в группе «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» число активных неагрессивных контактов было меньше, чем в группе «ПМ+ИНТ». Омега-3 ПНЖК предотвращали реструктуризацию активного неагрессивного поведения у стрессированных крысят, не уменьшая суммарного числа активных неагрессивных социальных контактов: в случае соче-

танного действия омега-3 ПНЖК и стрессирования (группа «Омега-3 ПНЖК+ФР») негативные эффекты каждого из факторов не проявлялись.

У крыс, достигших двухмесячного возраста, перенесенное в неонатальном периоде мягкое стрессирование проявлялось увеличением числа неагрессивных социальных контактов: в группе «ПМ+ФР» число контактов было выше, чем в группе «ПМ+ИНТ» (рис. 6). Омега-3 ПНЖК сами по себе не изменяли число и длительность неагрессивных социальных контактов (группа «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» в сравнении с группой «ПМ+ИНТ»), но предотвращали их увеличение у крыс, перенесших стрессирование (группа «Омега-3 ПНЖК+ФР» в сравнении с группой «Омега-3 ПНЖК+ИНТ»).

Длительность неагрессивных социальных контактов в группах статистически значимо не различалась ни на одном из сроков обследования.

Стрессирование само по себе не влияло на агрессивное поведение крыс-подростков (группа «ПМ+ФР» в сравнении с группой «ПМ+ИНТ») (рис. 6). Омега-3 ПНЖК сами по себе также не оказывали влияния на агрессивность животных (группа «Омега-3 ПНЖК+ИНТ» в сравнении с группой «ПМ+ИНТ»). В группе «Омега-3 ПНЖК+ФР» не выявлено статистически значимых отличий в величинах показателей агрессивного поведения от групп «ПМ+ФР» и «Омега-3 ПНЖК+ИНТ», хотя обращает на себя внимание большая вариативность величины этих показателей.

У взрослых крыс в возрасте 2 мес. не просматривалось последствий стрессирования по показателям агрессивного поведения, однако в группе ИНТ крыс, получавших омега-3 с молоком матери («Омега-3 ПНЖК+ИНТ»), были увеличены (на уровне выраженной тенденции) суммарное число и длительность агрессивных эпизодов (соответственно, $p = 0,095$ и $p = 0,056$) по сравнению с группой «ПМ+ИНТ». Сочетанное действие омега-3 ПНЖК и стрессирования (группа «Омега-3 ПНЖК+ФР») по показателям агрессивного поведения было сходно с проагрессивным действием омега-3 ПНЖК у ИНТ крыс, однако отличие от величины показателей группы «ПМ+ФР» не достигало уровня статистической значимости.

Изучение в динамике эффектов омега-3 ПНЖК, полученных с молоком матери, проведено на крысятах, подвергнутых процедуре многократного внутрибрюшинного введения ФР, которая является стандартной для контрольных групп в нейрофармакологических исследованиях. Эта процедура, включающая в себя стресс, связанный с хэндлингом и уколами, относится к щадящим стресс-воздействиям и, как правило, не изменяет поведение взрослых крыс,

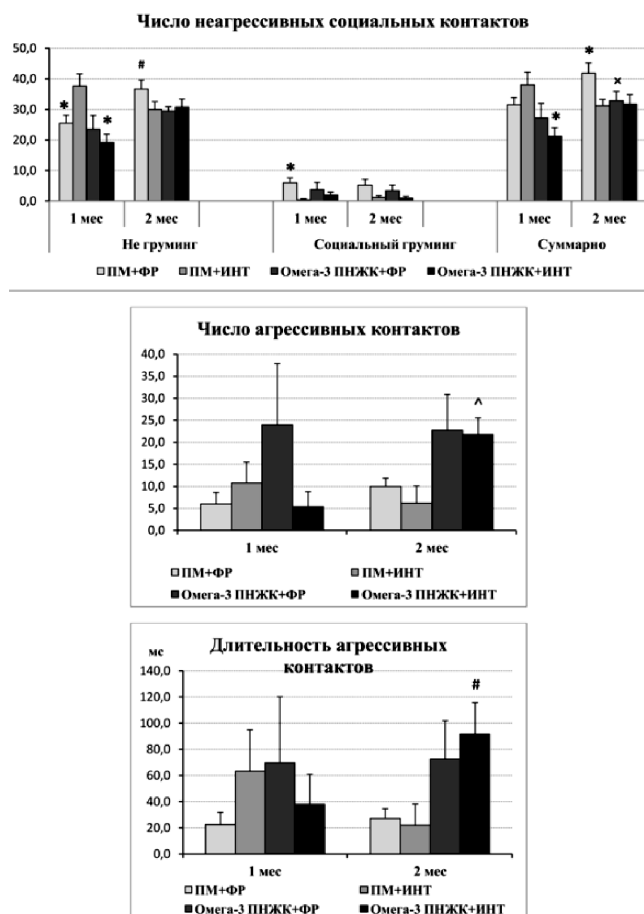


Рис. 6. Показатели неагрессивного и агрессивного взаимодействия в тесте социальных контактов у крыс, подвергнутых действию стрессирования многократным введением физиологического раствора (ФР) в период с 5 по 18 постнатальные дни, и интактных (ИНТ) животных, вскормленных крысами-самками, получавшими омега-3 ПНЖК или подсолнечное масло (ПМ) в период лактации. Общее число неагрессивных социальных контактов определяли как сумму эпизодов социального груминга и эпизодов всех других видов неагрессивного социального взаимодействия (не груминг). * по сравнению со значением показателя в группе «ПМ+ИНТ», $p < 0,05$; # по сравнению с группой «ПМ+ИНТ», $p < 0,06$; ^ по сравнению с группой «ПМ+ИНТ», $p < 0,1$; x по сравнению с группой «ПМ+ФР», $p < 0,09$. Сравнение по непарному непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

однако может приводить к нарушениям физиологических реакций [22] и вызывать ультраструктурные изменения в нервных клетках крыс [20], то есть может сопровождаться нейропластическими изменениями. В целом, такую процедуру можно рассматривать как модель мягкого стресса. Однако с учетом того, что в неонатальном периоде мозг отличается особой чувствительностью сенсорных систем к стимуляции [23], процедура многократного введения ФР в период раннего онтогенеза может провоцировать возникновение нейропластических перестроек в ЦНС, существенных для дальнейшего изменения поведения. Действительно, мы обнаружили, что крысята, перенесшие двухнедельную процедуру введения ФР на 2—3-й нед постнатального развития, в возрасте 1 мес. отстают в наборе веса (рис. 1) демонстрируют признаки повышения тревожности (рис. 2) и депрессивности (рис. 5) в поведении. У них также изменяется характер зоосоциального взаимодействия, а именно, уменьшается число неагрессивных социальных контактов всех типов, за исключением социального груминга. (рис. 6). У взрослых животных в возрасте 2 мес. поведение нормализуется. Более того, отмечается выраженная тенденция к повышению исследовательской активности, что, по-видимому, находит отражение в значительном увеличении числа неагрессивных социальных контактов (рис. 6). Таким образом, субхроническое введение ФР в раннем постнатальном периоде сопровождается нарушениями в поведении крыс, выраженными преимущественно в подростковом возрасте.

В настоящей работе на данной модели мягкого стресса получено принципиальное подтверждение наличия антидепрессивного и психостимулирующего действия омега-3 ПНЖК у животных, перенесших стрессирование, и показано, что эффект наблюдается на разных стадиях онтогенеза. Вместе с тем, использованный подход к оценке эмоционально-мотивационного поведения крыс в динамике их взросления позволил выявить негативное влияние омега-3 ПНЖК на поведение как ИНТ крыс, так и крыс, стрессированных в раннем неонатальном периоде, что проявлялось наличием признаков повышенной тревожности, более выраженных у взрослых животных, снижением ориентировочно-исследовательской деятельности у взрослых крыс, увеличении числа и длительности агрессивных эпизодов у взрослых животных.

Выраженность негативных последствий приема омега-3 ПНЖК кормящими самками крыс по показателям эмоционально-мотивационного поведения потомства усиливается в динамике взросления крысят. Об усилении тяжести последствий дефицита омега-3 ПНЖК в рационе мышей по мере их взрос-

ления сообщалось в работе [24]. По-видимому, как недостаток омега-3 ПНЖК, так и обогащение пищи путем их добавления в раннем онтогенезе могут иметь отдаленные последствия, проявляющиеся в негативном влиянии на эмоционально окрашенное поведение.

Особый интерес представляет тот факт, что в случае раннего постнатального действия омега-3 ПНЖК их отдаленные эффекты различаются по знаку: позитивные по показателям предотвращения развития депрессивности в поведении стрессированных животных и негативные по показателям повышения тревожности и агрессивности, заметного у взрослых ИНТ крыс. Данные, полученные в настоящей работе на модели мягкого стресса, вызванного многократным введением ФР крысятам в раннем постнатальном периоде, принципиально согласуются с данными, полученными на других моделях стрессирования. В работе Nakashima et al. [25] показано, что прием омега-3 ПНЖК по сравнению с приемом омега-6 ПНЖК кормящими самками мышей и мышатами после их отлучения от матери сопровождается ростом тревожности шестинедельных мышат в тесте ПКЛ. В работе Vancassel et al. [26] добавление омега-3 ПНЖК в рацион мышей, подвергавшихся классическому хроническому мягкому стрессу, приводило к ухудшению поведения животных в тесте подавления приема пищи в условиях новизны: латентный период взятия корма возрастал как у стрессированных, так и у контрольных взрослых животных с предварительной пищевой депривацией. Авторы предполагают наличие у омега-3 ПНЖК подавляющего действия на пищевую мотивацию в условиях конфликта пищевой мотивации и страха новизны и, на основании полученных ими данных, считают, что антистрессорное действие омега-3 ПНЖК обусловлено их влиянием на состояние центральных моноаминергических систем в структурах мозга. В исследовании Chalon et al. [27] было выявлено снижение двигательной активности в автоматизированном тесте «открытого поля» у крыс, подвергнутых стрессу ограничения и получавших пищу, обогащенную омега-3 ПНЖК, что хорошо согласуется с полученными нами результатами. Авторы связывают такое снижение с нарушением функционирования кортикальной дофаминергической системы.

В наших предыдущих исследованиях по изучению антидепрессивного действия у синтетических ингибиторов ПЭП на моделях депрессивноподобных и смешанных тревожно-депрессивных состояний [3—5] мы связывали генез таких состояний с изменениями функциональной активности пролинспецифических пептидаз ПЭП и ДПП-IV в ЦНС. По-видимому, в случаях появления у ИНТ крысят негативных последствий приема омега-3 ПНЖК, обладающих

свойствами ингибиторов ПЭП, в механизмах развития этих нарушений также участвуют данные пептидазы, в первую очередь, ПЭП. Это предположение находит поддержку в работе Peltonen et al. [28], показавших, что ПЭП играет регуляторную роль в модуляции дофаминергической передачи, различающуюся в nigrostriатной и мезолимбической дофаминергических системах и осуществляющуюся, по-видимому, опосредованно через рецепторы нейротензина. Таким образом, просматривается опосредованная взаимосвязь действия ингибиторов ПЭП — омега-3 ПНЖК — с изменением состояния моноаминергических, в частности, дофаминергических систем мозга, вовлеченных в генез аффективных нарушений, что в определенных условиях может проявляться развитием негативной симптоматики в эмоционально-мотивационном поведении.

Известно, что омега-3 ПНЖК обладают иммунорегуляторным действием [29]. Вклад ЭПК и ДГК в иммунорегуляторные эффекты омега-3 ПНЖК различен: ЭПК не оказывает влияния на уровень цитокинов в экспериментах *ex vivo*, тогда как ДГК изменяет соотношение цитокинов в пользу провоспалительных, что может способствовать появлению расстройств настроения [30]. Интересно, что ДГК обладают более выраженным тормозным действием на ПЭП, чем ЭПК [6]. Нельзя исключить, что выявленные нами разные поведенческие эффекты омега-3 ПНЖК у стрессированных и ИНТ крысят могут быть обусловлены разнонаправленными влияниями составляющих омега-3 ПНЖК компонентов и зависят от состояния стресс-реактивных систем животного. Кроме того, заслуживает внимания факт смены знака действия омега-3 ПНЖК на уровень тревожности в сторону ухудшения оценки в зависимости от возраста крыс, а также то, что нарушения поведения вследствие приема омега-3 ПНЖК с молоком матери были длительными и усиливались во взрослом возрасте.

К механизмам действия омега-3 ПНЖК, без разделения эффектов на позитивные и негативные, как сказано выше, относят их регуляторное влияние на состояние моноаминергических систем и иммунной системы мозга [28—29]. Обнаружено влияние омега-3 ПНЖК на нейрогенез в гиппокампе и активность гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси [10]. Все эти механизмы связаны с состоянием нейропсихического здоровья. Результаты настоящей работы позволяют добавить в этот список еще один механизм, посредством которого омега-3 ПНЖК могут оказывать влияние на эмоционально-мотивационное поведение — торможение активности ПЭП.

Заключение

На модели мягкого стресса, вызванного многократным внутривентрикулярным введением ФР крысытам на 2—3-й нед постнатального развития, показано что омега-3 ПНЖК, обладающие свойствами ингибиторов ПЭП, в условиях их приема кормящими самками проявляют выраженное антидепрессивное и психостимулирующее действие на поведение потомства.

Омега-3 ПНЖК в тесте социального взаимодействия предотвращали стресс-индуцированную реструктуризацию активного неагрессивного поведения у крыс подросткового возраста. У взрослых крыс омега-3 ПНЖК предотвращали вызванное стрессированием увеличение числа неагрессивных социальных контактов, однако увеличивали суммарное число и длительность агрессивных эпизодов (на уровне выраженной тенденции) у интактных животных.

Омега-3 ПНЖК, полученные с молоком матери, в тесте ПКЛ оказывали анксиолитическое действие на крысят подросткового возраста по показателю увеличения предпочтения открытых рукавов и анксиогенное — по показателю роста числа колебаний при исследовании лабиринта. По достижении двухмесячного возраста омега-3 ПНЖК по большинству показателей в этом тесте оказывали анксиогенное действие как на интактных, так и на стрессированных животных.

Омега-3 ПНЖК не предотвращали вызванную стрессированием задержку в наборе веса у крысят подросткового возраста и вызывали снижение ориентировочно-исследовательской активности у взрослых крыс независимо от факта стрессирования.

Последствия действия омега-3 ПНЖК, полученных с молоком матери, включавшие в себя как позитивное, так и негативное влияние на поведение крыс, наблюдались на протяжении всего двухмесячного периода наблюдения и различались у животных подросткового и взрослого возраста.

Результаты работы являются новым экспериментальным свидетельством вовлеченности ПЭП в патогенез депрессивноподобного поведения, тревожности и агрессивности и расширяют представления о спектре возможных негативных влияний омега-3 ПНЖК в условиях их приема кормящими самками на поведение потомства в разные периоды постнатального онтогенеза.

References

1. Garcia-Horsman J.A., Mannisto P.T., Venalainen J.I. On the role of prollyl oligopeptidase in health and disease. *Neuropeptides*. 2007; 41(1):1-24.
2. Hofling C., Kuleshkaya N., Jaako K., Peltonen I., Mannisto P.T., Nurmi A. et al. Deficiency of prollyl oligopeptidase in mice disturbs synaptic plasticity and reduces an-

- xiety-like behaviour, body weight, and brain volume. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2016; 26(6):1048-61. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2016.02.015.
3. Krupina N.A., Khlebnikova N.N., Zolotov N.N., Kushnareva E.Yu., Bogdanova N.G., Orlova I.N. Synthetic inhibitors of prolyl endopeptidase exhibit antidepressant-like effects in rat models of depressive syndrome and anxiety-depression state. In: Jayden T. Van Leeuwen, ed. *Antidepressants: Types, Efficiency and Possible Side Effects*. NY: Nova Science Publishers, Inc.; 2010: 135-54, ISBN 978-1-61668-581-2
 4. Krupina N.A., Bogdanova N.G., Khlebnikova N.N., Zolotov N.N., Kryzhanovskii G.N. Benzyloxycarbonyl-methionyl-2(S)-cyanopyrrolidine, a prolyl endopeptidase inhibitor, modulates depression-like behavior of rats in forced swimming test and activities of proline-specific peptidases in the brain structures. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2013; 154(5): 606-9. DOI: 10.1007/s10517-013-2010-y.
 5. Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Kushnareva E.Yu., Zolotov N.N., Kryzhanovskii G.N. Effect of imipramine and prolyl endopeptidase inhibitor benzyloxycarbonyl-methionyl-2(S)-cyanopyrrolidine on activity of proline-specific peptidases in the brain of rats with experimental anxious-depressive syndrome. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012; 152(4): 409-12. DOI: 10.1007/s10517-012-1540-z.
 6. Park Y.S., Jang H.J., Lee K.H., Hahn T.R., Paik Y.S. Prolyl endopeptidase inhibitory activity of unsaturated fatty acids. *J. Agric. Food. Chem.* 2006; 54(4): 1238-42. DOI: 10.1021/jf052521h
 7. Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Neonatal exposure to the dipeptidyl peptidase-IV inhibitors diprotin A and sitagliptin induces depression-like behavior, anxiety, and latent aggression in adolescent and adult rats. *J. Behav. Brain Sci.* 2016; 6(4): 167-83. DOI: 10.4236/jbbs.2016.64018
 8. Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Omega-3 polyunsaturated fatty acids when administered to lactating rats modify the development of experimental anxiety-depressive state in the rat pups exposed to the dipeptidyl peptidase-IV inhibitor diprotin A on the second — third weeks after the birth. *Patol. Fiziol. Eksp. Ther.* 2016; 60 (4): 9 -19. (in Russian)
 9. Wilczynska-Kwiatkowska A., Singh Ram B., De Meester F. *Nutrition and Behaviour: The Role of ω 3 Fatty Acids*. The Open Nutraceuticals J. 2010; 3: 119-128. DOI: 10.2174/18763960010030300119
 10. Larriue T., Hilal M.L., Fourrier C., De Smedt-Peyrusse V., Sans N., Capuron L. et al. Nutritional omega-3 modulates neuronal morphology in the prefrontal cortex along with depression-related behaviour through corticosterone secretion. *Transl. Psychiatry.* 2014 Sep 9; 4:e437. DOI: 10.1038/tp.2014.77.
 11. McNamara R.K., Carlson S.E. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2006; 75(4-5): 329-49. DOI:10.1016/j.plefa.2006.07.010
 12. Green P., Yavin E. Fatty acid composition of late embryonic and early postnatal rat brain. *Lipids.* 1996; 31(8): 859-65. DOI:10.1007/BF02522981
 13. Yehuda S., Rabinovitz S., Mostofsky D.I. Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. *Neurobiol. Aging.* 2005; 26(Suppl. 1): 98-102. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2005.09.013
 14. Carlson S.J., Fallon E.M., Kalish B.T., Gura K.M., Puder M. The role of the ω -3 fatty acid DHA in the human life cycle. *JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr.* 2013; 37(1):15-22. DOI: 10.1177/0148607112467821
 15. Buydens-Branchey L., Branchey M., Hibbeln J.R. Associations between increases in plasma n-3 polyunsaturated fatty acids following supplementation and decreases in anger and anxiety in substance abusers. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2008; 32(2): 568-75. DOI:10.1016/j.pnpbp.2007.10.020
 16. Ferraz A.C., Delattre A.M., Almendra R.G., Sonagli M., Borges C., Araujo P., Andersen M.L., Tufik S., Lima M.M. Chronic ω -3 fatty acids supplementation promotes beneficial effects on anxiety, cognitive and depressive-like behaviors in rats subjected to a restraint stress protocol. *Behav. Brain Res.* 2011; 219(1): 116-22. DOI: 10.1016/j.bbr.2010.12.028.
 17. Takeuchi T., Iwanaga M., Harada E. Possible regulatory mechanism of DHA-induced anti-stress reaction in rats. *Brain Res.* 2003; 964(1): 136-43. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)04113-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)04113-6)
 18. Appleton K.M., Grippo A.J., Beltz T.G., Johnson A.K. Consumption of a high n-3 polyunsaturated fatty acid diet during gradual mild physiological stress in rats // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2015; 95: 11-8. DOI: 10.1016/j.plefa.2014.11.010.
 19. Adell A., Casanovas J. M., Artigas F. Comparative Study in the Rat of the Actions of Different Types of Stress on the Release of 5-HT in Raphe Nuclei and Forebrain Areas. *Neuropharmacology.* 1997; 36(4-5): 735-41. [http://dx.doi.org/10.1016/S0028-3908\(97\)00048-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0028-3908(97)00048-8)
 20. Folan J.C., Johansson O., Heym C. Paraganglionic cell response to chronic imipramine and handling stress: an ultrastructural study. *J. Neural. Transm. Gen. Sect.* 1990; 79(3): 169-81. DOI:10.1007/BF01245128
 21. Rosenfeld P., Gutierrez Y.A, Martin A.M., Mallett H.A., Alleve E., Levine S. Maternal regulation of the adrenocortical response in preweanling rats. *Physiol. Behav.* 1991; 50(4): 661-71. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384\(91\)90001-5](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9384(91)90001-5)
 22. Paniagua N., Giron R., Goicoechea C., Lopez-Miranda V., Vela J.M., Merlos M., Martin Fontelles M.I. Blockade of sigma 1 receptors alleviates sensory signs of diabetic neuropathy in rats. *Eur. J. Pain.* 2017; 21(1):61-72. DOI: 10.1002/ejp.897.
 23. Freitas D., Antoniazzi C.T., Segat H.J., Metz V.G., Vey L.T., Barcelos R.C. et al. Neonatal tactile stimulation decreases depression-like and anxiety-like behaviors and potentiates sertraline action in young rats. *Int. J. Dev. Neurosci.* 2015; 47(Pt B): 192-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2015.09.010>
 24. Carrie I., Clement M., de Javel D., Frances H., Bourre J.-M. Phospholipid supplementation reverses behavioural and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *J. Lipid Res.* 2000; 41(3): P. 473-80.
 25. Nakashima Y., Yuasa S., Hukamizu Y., Okuyama H., Ohhara T., Kameyama T. et al. Effect of a high linoleate and a high α -linolenate diet on general behaviour and drug sensitivity in mice. *J. Lipid Res.* 1993; 34(2): 239-47.
 26. Vancassel S., Leman S., Hanonick L., Denis S., Roger J., Nolle M. et al. n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation reverses stress-induced modifications on brain monoamine levels in mice. *J. Lipid Res.* 2008; 49(2): 340-8. DOI:10.1194/jlr.M700328-JLR200
 27. Chalon S., Delion-Vancassel S., Belzung C., Guillo-teau D., Leguisquet A.M., Besnard J.C. et al. Dietary fish oil affects monoaminergic neurotransmission and behaviour in rats. *J. Nutr.* 1998; 128(12): 2512-9.
 28. Peltonen I, Myohanen T.T., Mannisto P.T. Different interactions of prolyl oligopeptidase and neurotensin in do-

paminergic function of the rat nigrostriatal and mesolimbic pathways. *Neurochem Res.* 2012; 37(9):2033-41. DOI: 10.1007/s11064-012-0825-y.

29. Su K.P. Biological mechanism of antidepressant effect of omega-3 fatty acids: how does fish oil act as a 'mind-body interface'? *Neurosignals.* 2009; 17(2):144-52. DOI: 10.1159/000198167.

30. Maes M., Mihaylova I., Kubera M., Bosmans E. Why fish oils may not always be adequate treatments for depression or other inflammatory illnesses: docosahexaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, induces a Th-1-like immune response. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2007; 28: 875-80.

Сведения об авторах:

Хлебникова Надежда Николаевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы, e-mail: nanikh@yandex.ru