

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

ВВЕДЕНИЕ РЫБЬЕГО ЖИРА В РАЦИОН БЕРЕМЕННЫХ КРЫС ОГРАНИЧИВАЕТ ВЫРАЖЕННОСТЬ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ ИХ ПОТОМСТВА, ОБУСЛОВЛЕННЫХ ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССОРОВ В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

БЕЛЯЕВА Л.Е., ФЕДЧЕНКО А.Н., ЛАЗУКО С.С., ЛИГЕЦКАЯ И.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», г.Витебск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2016. – Том 15, №1. – С. 27-36.

THE INTRODUCTION OF FISH OIL IN THE DIET OF PREGNANT RATS RESTRICTS THE SEVERITY OF THEIR OFFSPRINGS' BEHAVIOUR DISORDERS DUE TO THE EFFECT OF STRESSORS IN THE PRENATAL PERIOD

BELYAEVA L.E., FEDCHENKO A.N., LAZUKO S.S., LIGETSKAYA I.V.

Educational Establishment «Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University», Vitebsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2016;15(1):27-36.

Резюме.

Цель работы – выяснить влияние рыбьего жира, вводимого в организм беременных крыс при моделировании у них хронического стресса, на характер изменения поведения их потомства в различные возрастные периоды.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 4-месячных беременных крысах *Rattus Muridae* (n=40), распределенных по группам «контроль» и «стресс». В каждой из групп выделяли две подгруппы животных, одной из которых в течение беременности внутрижелудочно ежедневно вводили 0,2 мл крахмального клейстера, а второй – эквивалентный объем рыбьего жира, содержащий смесь эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот, из расчета 60 мг/кг/сут. Для моделирования хронического непредсказуемого стресса во 2-й, 9-й и 16-й дни беременности крыс лишали пищи в течение суток, обеспечивая свободный доступ к воде; в 4-й и 11-й дни их фиксировали в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ($t=23\pm 2^\circ\text{C}$), до уровня шеи, в течение 20-ти минут; в 6-й и 13-й дни беременности имитировали присутствие хищника (контакт с экскрементами *Felis* в течение 1-х суток). После рождения потомства отмечали уровень каннибализма самками своих детенышей в течение 10 дней, а затем исследовали поведение потомства в 1-месячном и 3-месячном возрасте в тесте «открытое поле».

Результаты. Под влиянием рыбьего жира процент каннибализма самками потомства в группах «контроль» и «стресс» уменьшился с 5,1% до 1,4%, и с 34,1% до 4,9%, соответственно. Потомство крыс группы «стресс» характеризовалось большей пассивностью, повышенным уровнем тревожности и эмоциональности, а также снижением исследовательской активности в тесте «открытое поле». Введение рыбьего жира крысам группы «стресс» во время беременности ограничивало выраженность постстрессорных нарушений поведения их потомства в 1-месячном и 3-месячном возрасте преимущественно у самок.

Заключение. Введение рыбьего жира крысам во время беременности в условиях хронического непредсказуемого стресса существенным образом ограничивает постстрессорные нарушения поведения потомства, причем эффективность выше у самок, чем у самцов.

Ключевые слова: пренатальный стресс, рыбий жир, тест «открытое поле».

Abstract.

Objectives. To determine the influence of fish oil administered to pregnant rats while modelling in them chronic unpredictable stress on their offsprings' behaviour in different age periods.

Material and methods. The experiments were carried out on 4-month pregnant rats ($n=40$) divided into the «control» and «stress» groups. Each of these groups was further subdivided into two subgroups of animals. Experimental groups included animals, which received intragastrically 0,2 ml of the starch solution as a gavage once a day during the whole period of pregnancy, and rats receiving the equivalent volume of fish oil containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids at the daily dose of 60 mg/kg. Chronic unpredictable stress was modelled by food deprivation during one day with the provision of free access to water on the 2nd, the 9th and the 16th days of pregnancy; upright immobilization of rats in the plastic box filled with water ($t=23\pm 2^{\circ}\text{C}$) up to the level of the neck during 20 minutes on the 4th and the 11th days of pregnancy; the imitation of a predator presence (contact with *Felis* excrements during one day) on the 6th and the 13th days of pregnancy. After the delivery of offsprings the maternal cannibalism level was assessed during 10 days. Then the behaviour of the offsprings was studied in the «open field» test at the age of 1 and 3 months.

Results. Under the influence of fish oil the maternal cannibalism level in the «control» and «stress» groups decreased from 5,1% to 1,4% and from 34,1% to 4,9%, respectively. Prenatally stressed rats' offsprings were more passive and demonstrated increased levels of anxiety and emotionalism as well as lower exploratory activity in the «open field» test. Fish oil administration to the «stress» group rats during pregnancy significantly limited the severity of the behavioural changes of the prenatally stressed offsprings both at the age of 1 month and 3 months, especially in female rats.

Conclusions. The introduction of fish oil to pregnant female rats from the «stress» group considerably limits the development of stress-related behavioural disorders in their offsprings. The efficacy of such fish oil administration is higher in prenatally stressed female rats than in male ones.

Key words: prenatal stress, fish oil, «open field» test.

Негативные медицинские и социальные последствия хронического стресса, перенесенного во время беременности, характеризуются значительными нарушениями когнитивных функций, развитием шизофрениеподобных расстройств и снижением качества жизни даже взрослых потомков [1], что требует разработки новых подходов к профилактике и коррекции таких нарушений. В последнее время пристальное внимание исследователей уделяется изучению возможности использования в качестве немедикаментозных средств профилактики и коррекции неблагоприятных последствий пренатального стресса нутрицевтических препаратов, в том числе, содержащих длинноцепочечные ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты (ω -3 ПНЖК) – эйкозапентаеновую (ЭПК) и докозагексаеновую (ДГК) кислоты. Известно, что эти кислоты, особенно ДГК, накапливаются в клетках зон мозга, отвечающих за процессы обучения и памяти, а также в клетках сетчатки глаза. ДГК совершенно необходима на всех этапах развития мозга, включая процессы пролиферации нейроцитов, их миграции, дифференцировки, а также синаптогенеза [2]. Сам по себе дефицит эссенциальных ω -3 ПНЖК оказывает неблагоприятное влияние на состояние здоровья беременных женщин, способствуя развитию у них депрессивных расстройств [3], нарушая нормальное протекание беременности и родов

[4], а также программируя нарушения нервно-психического развития их детей. Так, низкая концентрация ДГК в пуповинной крови новорожденных мальчиков напрямую коррелирует с высокой частотой обнаружения у них малых неврологических аномалий в 9-летнем возрасте [5]. Учитывая, что клетки центральной нервной системы особо уязвимы к действию патогенов в антенатальном периоде [1], становится понятным, что включение эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот в состав фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина мембран нейроцитов развивающегося мозга потомства, матери которых во время беременности подвергаются действию различных стрессоров, может существенным образом изменить фенотипические свойства этих клеток и ограничить выраженность последствий пренатального стресса. Результаты научных исследований, выполненных к настоящему времени, указывают на целесообразность использования длинноцепочечных ω -3 ПНЖК для коррекции поведения экспериментальных животных, испытывавших действие стрессоров в самые ранние периоды онтогенеза [6, 7, 8], однако существует недостаточное количество сведений об их использовании с профилактической целью при хроническом непредсказуемом стрессе (chronic unpredictable stress), модель которого максимально приближена к реальным условиям при нахождении

беременных женщин в зонах военного конфликта, стихийного бедствия, техногенной катастрофы и т.п. Цель исследования – выяснить влияние рыбьего жира, вводимого в организм беременных крыс при моделировании у них хронического стресса, на характер изменения поведения их потомства в различные возрастные периоды в тесте «открытое поле».

Материал и методы

Для получения потомства были отобраны и высажены в 40 клеток в соотношении 1:1 40 4-месячных беспородных самок и 40 самцов *Rattus Muridae*, находящихся в стандартных условиях вивария и получающих стандартный рацион питания. После наступления беременности, которая подтверждалась фактом обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке самки, самцы были отсажены, из самок методом случайного выбора сформировали две группы: 1- группа «контроль» (20 самок), 2 - группа «стресс» (20 самок). Крыс контрольной группы и группы «стресс» случайным образом распределяли на равные подгруппы, получавшие эквивалентные объемы (0,2 мл) крахмального клейстера или рыбьего жира (изготовитель ЗАО «Бисола», Литва), вводимых с помощью зонда внутрижелудочно ежедневно в течение всей беременности. Указанный объем рыбьего жира содержал смесь ЭПК и ДГК, которые беременные крысы получали из расчета 60 мг/кг/сут. Для моделирования хронического непредсказуемого стресса [9] во 2-й, 9-й и 16-й дни беременности крыс лишали пищи в течение суток, обеспечивая свободный доступ к воде; в 4-й и 11-й дни их фиксировали в вертикальном положении в пластиковом пенале, заполненном водой ($t=23\pm 2^\circ\text{C}$), до уровня шеи, в течение 20-ти минут; в 6-й и 13-й дни беременности имитировали присутствие хищника (контакт с экскрементами *Felis* в течение 1-х суток). После рождения потомства отмечали уровень каннибализма самками родившегося потомства в течение 10 дней, а затем исследовали поведение потомства ($n=161$) в 1-месячном и 3-месячном возрасте в тесте «открытое поле». Этот тест позволяет оценить элементарные поведенческие акты у крыс при помещении их в новое открытое пространство с площадью, большей, чем клетка повседневного содержания. Поведение крыс исследо-

вали в течение 3 минут в утренние часы в затененной комнате с помощью видеосистемы SMART и программного обеспечения SMART 3.0. Двигательную активность крыс оценивали по дистанции, пройденной в центральной зоне и на периферии «поля», по процентному соотношению продолжительности нахождения крыс в разных зонах; об уровне тревожности судили по длительности замирания крыс в различных зонах «поля». Об исследовательской активности животных судили по количеству вертикальных стоек, а об эмоциональности животных – по количеству болюсов. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 10.0». Характер распределения цифровых данных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Характеристики частотных распределений представляли в виде M , M_e ; 15 и 85 процентиля. Выборки с нормальным частотным распределением обрабатывали с использованием критерия Стьюдента; с частотным распределением, не соответствующим нормальному – с использованием критерия Манна-Уитни. Различия цифровых показателей считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты

Процент каннибализма самками потомства в течение первых 10 суток после рождения у крыс групп «контроль» и «стресс», не получавших рыбий жир, составлял 5,1% и 34,1%, соответственно. В условиях введения беременным крысам контрольной группы и группы «стресс» рыбьего жира процент каннибализма потомства уменьшался до 1,4% и 4,9%, соответственно.

Показатели, характеризующие поведение 1-месячных крыс в тесте «открытое поле», представлены в таблице 1. В этом возрасте у крыс контрольной группы выявлялись половые различия длительности их замирания в периферической зоне «открытого поля» и общей длительности замирания, которые были больше у самок, нежели у самцов, в среднем на 52,7% и 61,6%, соответственно. Воздействие хронического непредсказуемого стресса на беременных крыс привело к тому, что у их 1-месячного потомства-самок статистически значимо увеличивались длительность замирания в центральной зоне «поля», общая длитель-

Таблица 1 – Характер изменения поведенческой активности 1-месячного потомства крыс, подвергавшихся хроническому непредказуемому стрессу во время беременности на фоне введения им рыбьего жира, в тесте «открытое поле».

Показатели	Группы крыс							
	Без введения рыбьего жира				На фоне введения рыбьего жира			
	Потомство «Контроль»		Потомство «Стресс»		Потомство «Контроль»		Потомство «Стресс»	
	♀ (n=18)	♂ (n=19)	♀ (n=11)	♂ (n=10)	♀ (n=32)	♂ (n=32)	♀ (n=20)	♂ (n=19)
Продолжительность пребывания в периферической зоне, %	92,26; 97,36 (88,95;99,32)	95,42; 96,97 (88,87;99,45)	89,51; 91,11 (79,99; 98,78)	89,81; 94,03 (78,75; 98,15)	83,34 96,04 (59,47; 99,32)	94,77 ^a 98,10 (94,36; 100,00)	83,74 96,03 (74,07; 99,68)	96,65 96,56 (93,37; 100,00)
Продолжительность пребывания в центральной зоне, %	7,74 2,64 (0,68; 11,05)	4,58; 3,03 (0,55; 11,13)	10,49; 8,89 (1,22; 20,01)	6,92; 4,00 (1,85; 14,77)	14,85 3,30 (0,68; 34,15)	5,23 ^a 1,90 (0,00; 5,64)	16,24 3,97 (0,33; 25,94)	3,33 3,44 (0,00; 6,63)
Дистанция в периферической зоне, %	89,34; 93,89 (82,49; 98,23)	92,79; 94,23; (80,75; 99,06)	85,67; 86,77 (74,90; 98,16)	89,99; 93,04 (78,19; 95,48)	83,55 94,15 (61,72; 98,90)	92,75 ^a 97,03 (90,03; 100,00)	81,23 94,34 (69,39; 99,03)	93,18 93,59 (86,18; 100,00)
Дистанция в центральной зоне, %	10,46; 6,11 (1,77; 17,51)	7,20; 5,77 (0,94; 19,25)	14,33 13,23 (1,84; 25,10)	10,00 6,96 (4,52; 21,81)	16,19 5,25 (0,88; 38,28)	7,25 ^a 2,98 (0,00; 9,97)	18,71 5,63 (0,85; 30,61)	6,77 6,41 (0,00; 13,82)
Длительность замирания в периферической зоне, %	39,01; 43,59 (21,00; 54,35)	25,55 ^a 19,83 (12,21; 44,32)	33,03 32,14 (13,24; 55,65)	41,09* 41,75 (21,48; 67,73)	27,38* 20,95 (8,17; 51,66)	43,91 ^{a,*} 41,84 (18,45; 74,25)	30,12 33,02 (2,28; 53,69)	33,99 23,49 (8,10; 67,34)
Длительность замирания в центральной зоне, %	0,31; 0,00 (0,00; 0,37)	0,41; 0,03 (0,00; 1,33)	19,65 * 1,37 (0,00; 100,00)	0,91 0,28 (0,00; 1,78)	5,42 0,00 (0,00; 1,63)	0,52 0,00 (0,00; 0,71)	0,45 0,00 (0,00; 1,14)	0,27 0,00 (0,00; 0,47)
Общая длительность замирания, %	41,83; 45,57 (26,73; 55,22)	25,89 ^a 19,95 (13,50; 44,42)	64,49* 58,02 (38,88; 100)	42,08* 41,75 (22,01; 73,06)	32,79* 23,60 (11,57; 56,48)	44,43 ^{a,*} 41,84 (18,45; 75,50)	40,52 [#] 37,63 (3,32; 78,05)	34,27 23,61 (8,10; 67,34)
Количество болюсов	1,29; 0,00 (0,00; 4,00)	0,89; 0,00 (0,00; 2,00)	2,90* 3,50 (1,00; 4,00)	1,50 1,00 (0,00; 4,00)	0,91 0,00 (0,00; 3,00)	2,03 ^{a,*} 1,50 (0,00; 5,00)	1,35 [#] 1,00 (0,00; 2,50)	1,44 1,00 (0,00; 3,00)
Количество вертикальных стоек	11,44 12,00 (7,00; 14,00)	10,95; 11,00 (8,00; 15,00)	10,90 11,00 (7,00; 14,00)	7,43* 7,00 (4,00; 10,00)	11,41 11,50 (7,00; 14,00)	10,84 11,00 (7,00; 15,00)	11,30 11,00 (6,00; 15,50)	12,42 [#] 11,00 (8,00; 19,00)

Примечание: * p<0,05 сравнение с группой «потомство - контроль без введения рыбьего жира» соответствующего пола; ^a p<0,05 сравнение в пределах одной группы между ♂ и ♀; [#] p<0,05 сравнение с группой «потомство - стресс без введения рыбьего жира» соответствующего пола.

ность замирания (на 54,2%) и количество болюсов, по сравнению с самками аналогичного возраста, родившихся у контрольных крыс. У потомства (самцов) в этом же возрасте, в отличие от самцов, родившихся у контрольных крыс, возрастала длительность замирания в периферической зоне и общая длительность замирания на 60,8% и 62,5%, соответственно. Количество вертикальных стоек у 1-месячных самцов, перенесших пренатальный стресс, было на 32,1% меньше, чем у самцов аналогичного возраста, родившихся у крыс контрольной группы. Половых различий показателей, полученных у самцов и самок 1-месячного возраста, подвергавшихся пренатальному стрессу, выявлено не было.

Введение рыбьего жира беременным крысам контрольной группы сопровождалось статистически значимым уменьшением длительности замирания их потомства (самок) в 1-месячном возрасте в периферической зоне «открытого поля» и общей длительности замирания; у потомства-самцов, наоборот, эти показатели статистически значимо превышали аналогичные показатели, выявленные у самцов, родившихся у крыс контрольной группы, не получавших рыбий жир. Количество болюсов у самцов, родившихся у крыс контрольной группы, получавших рыбий жир в течение беременности, статистически значимо возрастало, по сравнению с таковым у потомства-самцов крыс контрольной группы. Продолжительность пребывания самцов, матери которых получали рыбий жир во время беременности, в периферической зоне «поля», дистанция их перемещения в этой зоне и длительность замирания (как в периферической зоне «поля», так и общая), а также количество болюсов были бóльшими; наоборот, продолжительность пребывания самцов в центральной зоне «поля» и дистанция перемещения в ней были меньшими, чем у самок. Введение рыбьего жира крысам, подвергавшимся хроническому непредсказуемому стрессу во время беременности, существенным образом ограничивало выраженность постстрессорных нарушений показателей, характеризующих поведение их 1-месячного потомства в тесте «открытое поле», причем наилучшим образом это прослеживалось у самок. У таких самок длительность замирания в центральной

зоне «поля» не отличалась от таковой у самок, родившихся у контрольных животных, не получавших рыбий жир, а общая длительность замирания и количество болюсов у них уменьшались, не отличаясь от таковых у самок, родившихся у контрольных животных. У самцов (потомство крыс группы «стресс+рыбий жир») все показатели, характеризующие их поведение в тесте «открытое поле», не отличались от таковых, выявленных у самцов, родившихся у крыс контрольной группы, не получавших рыбий жир. Более того, введение рыбьего жира беременным крысам на фоне стресса привело к статистически значимому (на 67,2%) увеличению количества вертикальных стоек у самцов, по сравнению с количеством стоек у самцов, матери которых во время беременности подвергались стрессу и не получали рыбий жир.

Показатели, характеризующие поведение контрольного 3-месячного потомства в тесте «открытое поле», у самок и самцов статистически значимо не отличались, за исключением количества вертикальных стоек, которое было меньшим у самцов, по сравнению с таковым у самок (табл. 2). У 3-месячных самок, перенесших пренатальный стресс, обнаруживали бóльшую продолжительность пребывания в периферической зоне «поля» и дистанцию перемещения в ней, наряду с меньшими продолжительностью пребывания в центральной зоне «поля», дистанцией перемещения в этой зоне и количеством вертикальных стоек, по сравнению с соответствующими показателями у самок, не испытывавших действия стрессоров в пренатальном периоде. Пренатальный стресс способствовал увеличению количества болюсов у 3-месячных самцов, причем это количество было статистически значимо бóльшим, чем у самок аналогичной группы, а также уменьшению количества вертикальных стоек, по сравнению с таковым у самцов группы «потомство контроль».

У 3-месячных крыс контрольной группы, матери которых во время беременности получали рыбий жир, ни один из изучаемых показателей статистически значимо не отличался от такового в группе «потомство-контроль, матери которых не получали рыбий жир». Все изучаемые показатели, характеризующих поведение 3-месячных самок, матери которых во время беременности получали рыбий жир и

Таблица 2 – Влияние рыбьего жира, вводимого беременным крысам на фоне хронического непредсказуемого стресса, на характер поведения их 3-месячного потомства в тесте «открытое поле»

Показатели	Группы крыс							
	Без введения рыбьего жира				На фоне введения рыбьего жира			
	Потомство «Контроль»		Потомство «Стресс»		Потомство «Контроль»		Потомство «Стресс»	
	♀ (n=18)	♂(n=19)	♀(n=11)	♂(n=10)	♀(n=32)	♂(n=32)	♀(n=20)	♂(n=19)
Продолжительность пребывания в периферической зоне, %	96,89; 97,98 (94,09; 100,00)	97,07; 98,13 (94,39; 99,71)	98,73; 100,00* (94,72;100,00)	94,99; 96,52 (86,40; 100,00)	91,85; 97,23 (92,13; 100,00)	90,76; 98,13 (91,12; 100,00)	98,39; 99,55 (95,09; 100,00)	98,49; 99,44 (95,55; 100,00)
Продолжительность пребывания в центральной зоне, %	3,11; 2,03 (0,00;5,91)	2,72; 1,60 (0,00; 5,61)	1,27; 0,00* (0,00; 5,28)	4,08; 3,48 (0,00; 5,35)	8,15; 2,77 (0,00; 7,87)	9,54; 2,00 (0,00; 8,88)	1,60; 0,46 (0,00; 4,91)	1,05; 0,28 ^{a,b,#} (0,00; 2,48)
Дистанция в периферической зоне, %	94,53; 96,35 (87,55; 100,00)	92,31; 95,00 (74,41; 99,79)	97,90; 100,00* (92,61; 100,00)	90,01; 92,41 (77,57; 100,00)	91,12; 94,59 (83,14; 100,00)	89,71; 94,82 (88,12; 100,00)	97,30; 98,05 (92,93; 100,00)	95,60; 99,70 (91,07; 100,00)
Дистанция в центральной зоне, %	5,47; 3,65 (0,00;12,45)	6,35; 4,76 (0,00; 8,43)	1,72; 0,00 * (0,00; 7,39)	8,10; 6,22 (0,00; 14,23)	8,88; 5,41 (0,00; 16,86)	10,29; 5,18 (0,00; 11,88)	2,69; 1,95 (0,00; 7,08)	2,09; 0,00 ^{a,b} (0,00; 7,09)
Длительность замирания в периферической зоне, %	45,82; 48,86 (35,93; 62,02)	51,29; 55,71 (6,08; 81,96)	37,73; 41,39 (23,21;49,59)	54,89; 53,72 (30,79; 85,15)	54,89; 60,93 (16,76; 85,41)	52,84; 54,05 (30,81; 79,11)	39,31; 37,95 ^b (13,23; 65,23)	63,13; 75,42 ^a (7,89; 94,12)
Длительность замирания в центральной зоне, %	1,43; 0,00 (0,00; 0,87)	0,95; 0,00 (0,00; 2,01)	2,05; 0,58 (0,00; 4,99)	1,03; 0,29 (0,00; 2,60)	5,69; 0,00 (0,00;3,38)	6,60; 0,00 (0,00; 4,95)	0,45; 0,00 [#] (0,00; 1,06)	0,54; 0,00 (0,00; 1,29)
Общая длительность замирания, %	46,97; 48,86 (35,93; 66,63)	52,24; 55,71 (6,25; 82,25)	40,42; 41,53 (23,21; 56,86)	56,13; 50,46 (41,75; 75,51)	60,59; 63,78 (28,24; 94,88)	59,44; 58,67 (31,78; 88,47)	40,26; 37,95 ^b (14,24; 65,99)	63,68; 75,42 ^a (7,89; 97,41)
Количество болюсов	0,44; 0,00 (0,00; 2,00)	1,11; 0,00 (0,00; 4,00)	0,90; 0,00 (0,00; 4,00)	2,6; 2,00 ^{a,*} (0,00; 5,00)	1,88; 0,00 (0,00; 5,00)	1,19; 0,00 (0,00; 4,00)	1,15; 0,00 (0,00; 2,50)	2,32; 3,00 (0,00; 5,00)
Количество стоек	8,31; 8,00 (3,00; 12,00)	5,32; 5,00 ^a (1,00; 8,00)	4,33; 2,00* (0,00; 11,00)	2,67; 3,00* (1,00; 5,00)	7,50; 7,00 (3,00; 12,00)	5,59; 5,00 ^a (2,00; 9,00)	6,30; 6,00 (1,50; 11,50)	3,16; 3,00 ^{a, b,*} (0,00; 5,00)

Примечание: * p<0,05 сравнение с группой « потомство – контроль без введения рыбьего жира» соответствующего пола; ^a p<0,05 сравнение в пределах одной группы между ♀ и ♂; ^b p<0,05 сравнение с группой « потомство – контроль на фон введения рыбьего жира» соответствующего пола; [#] p<0,05 сравнение с группой «потомство - стресс без введения рыбьего жира» соответствующего пола.

подвергались действию хронического непредсказуемого стресса, в тесте «открытое поле», не отличались от таковых, полученных у самок группы «потомство-контроль без рыбьего жира». Более того, под влиянием рыбьего жира у таких самок статистически значимо уменьшилось время их замирания в центральной зоне «поля», по сравнению с таковым у крыс, перенесших пренатальный стресс, матери которых не получали рыбий жир. У самцов же, родившихся у крыс группы «стресс+рыбий жир», отмечалось статистически значимое уменьшение продолжительности их пребывания и дистанции перемещения в центральной зоне «поля». Количество болюсов и вертикальных стоек у них статистически значимо не отличалось от таковых у самцов, родившихся у крыс группы «стресс» без введения им рыбьего жира.

Обсуждение

Воздействие различных стрессоров во время беременности существенным образом нарушает поведение крыс-матерей и их потомства, что подтверждается, во-первых, обнаруженным нами и другими исследователями значительным увеличением процента каннибализма крысами, беременность которых протекала в неблагоприятных условиях, своего потомства в первые дни после его рождения [10], и, во-вторых, полученными нами данными об изменении поведения такого потомства в тесте «открытое поле». Изменения, выявленные у 1-месячного потомства, свидетельствуют о повышении тревожности у самок и самцов, перенесших стресс в пренатальном периоде, а также о повышении эмоциональности у таких самок и снижении исследовательской активности у самцов. К 3-месячному возрасту у самок, перенесших пренатальный стресс, помимо выявленных отклонений поведения, обнаруживали также снижение исследовательской активности. Такие самки не стремились исследовать новое пространство и остерегались выходить в центральную зону «поля», что свидетельствует об их пассивности и снижении двигательной активности. Несмотря на снижение уровня тревожности 3-месячных самцов, перенесших пренатальный стресс, в динамике наблюдения в этом возрасте количество болюсов, зарегистрированное у них в тесте «откры-

тое поле», превышало контрольную величину, что указывает на повышение эмоциональности таких самцов при попадании их в новые условия среды. Эти данные позволяют сделать вывод о долговременном характере нарушений поведения крыс обоих полов, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности. Полученные нами результаты, по-видимому, являются следствием тех стойких морфологических и функциональных изменений ЦНС, которые обнаруживаются после действия стрессоров в пренатальном периоде [1] и обусловлены нарушениями процессов нейрогенеза, дифференцировки и гибели клеток, а также нарушениями их фенотипических характеристик из-за изменения количественного и качественного состава рецепторов к нейромедиаторам, гормонам и факторам роста и нарушений пострецепторных механизмов передачи внутриклеточных сигналов этих веществ.

В отличие от многих экспериментальных исследований, в которых оценивалась возможность предупреждения или ограничения выраженности последствий пренатального стресса с помощью больших доз длинноцепочечных ω -3 ПНЖК (10-20 г рыбьего жира/кг/сут.; ДГК в дозе 100 мг/кг/сут.; ДГК+ЭПК в дозе 200 мг/кг/сут. и т.п.), мы оценили возможность использования рыбьего жира в такой дозе, которая обеспечивала бы поступление в организм ДГК+ЭПК в дозе из расчета 60 мг/кг/сут. Внутривенное введение рыбьего жира беременным крысам контрольной группы по-разному влияло на характер поведения их потомства лишь в 1-месячном возрасте: у самок выявляли снижение уровня тревожности, а у самцов – наоборот, ее повышение в сочетании с увеличением уровня эмоциональности. К 3-месячному возрасту различий в поведении потомства контрольных крыс, не получавших рыбий жир, и контрольных крыс, получавших рыбий жир во время беременности, уже не наблюдалось. Нами впервые установлено, что введение рыбьего жира беременным крысам, подвергавшимся хроническому непредсказуемому стрессу, значительно снизило процент каннибализма крысами своего родившегося потомства, что свидетельствует о прямом влиянии ω -3 ПНЖК, содержащихся в рыбьем жире, на характер функционирования ЦНС крыс-матерей после рождения потомства. Вве-

дение рыбьего жира беременным крысам группы «стресс» способствовало значительному уменьшению выраженности постстрессорных расстройств поведения их 1-месячного потомства, выявляемых в тесте «открытое поле»: так, у потомства обоих полов значительно снижались уровень тревожности, у самок уменьшалась повышенная эмоциональность, а у самцов возрастал уровень исследовательской активности. Эффекты вводимого рыбьего жира беременным крысам, подвергавшимся действию стрессоров во время беременности, оказались достаточно стойкими у их потомства-самок, так как в 3-месячном возрасте ни один из изучаемых показателей в этой группе статистически значимо не отличался от таковых, выявленных у потомства-самок контрольных крыс, не получавших рыбий жир во время беременности. В отличие от самок, матери которых подвергались действию стрессоров во время беременности на фоне введения им рыбьего жира, у 3-месячных самцов рыбий жир не предупреждал повышение их эмоциональности и снижение исследовательской активности, но при этом способствовал уменьшению их активности, что подтверждалось уменьшением как продолжительности пребывания таких самцов в центральной зоне «поля», так и дистанции их перемещения в этой зоне. Следовательно, рыбий жир, содержащий ЭПК и ДГК, наилучшим образом ограничивал выраженность расстройств поведения, обусловленных пренатальным стрессом у самок, причем вплоть до 3-месячного возраста.

Эффективность использования рыбьего жира – источника длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот ЭПК и ДГК, для предупреждения нарушения поведения крыс, вызванных пренатальным стрессом, объясняется (1) способностью ω -3 ПНЖК включаться в состав фосфолипидов фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина в мембранах клеток ЦНС с изменением текучести клеточных мембран и изменением функционирования мембранных и внутриклеточных рецепторов к гормонам, нейромедиаторам, факторам роста и другим сигнальным молекулам с последующим изменением фенотипических свойств клеток ЦНС; (2) изменением характера образования вторичных мессенджеров, участвующих в передаче внутриклеточных сигналов; (3) изменением характера образования медиаторов

липидной природы, регулирующих протекание воспаления с преобладанием продукции медиаторов с низкой воспалительной или даже противовоспалительной активностью, что особенно актуально при действии стрессоров в пренатальном периоде, запускающих воспаление низкой интенсивности в ЦНС [11]. Эти основные универсальные механизмы действия ω -3 ПНЖК лежат в основе регуляции не только клеточного цикла клеток развивающегося мозга, но и процессов их дифференцировки, гибели и межклеточных взаимодействий. Выявленные нами половые различия в характере влияния рыбьего жира на поведение самок и самцов, перенесших пренатальный стресс, согласуются с опубликованными данными о различной выраженности действия ω -3 ПНЖК у экспериментальных животных разных полов в различных экспериментальных моделях [12, 13]. Эти половые различия могут быть обусловлены разным исходным содержанием ЭПК и ДГК в ткани мозга плодов-самок и самцов – доказано, что у самок концентрация этих кислот в плазме крови выше, чем у самцов из-за активации ферментов, участвующих в образовании этих кислот из предшественника - α -линоленовой кислоты [14], различным характером экспрессии генов, зависимых от влияния ω -3 ПНЖК, обнаруженным даже в плаценте у плодов-самок и самцов [15], а также влиянием половых стероидов на многочисленные внутриклеточные сигнальные пути с последующим изменением фенотипических свойств различных клеток, в том числе и клеток ЦНС.

Заключение

Полученные нами результаты исследования позволяют сформулировать следующие выводы:

1. Воздействие хронического непредсказуемого стресса на беременных крыс приводит к стойким нарушениям поведения их потомства в тесте «открытое поле» как в 1-месячном, так и в 3-месячном возрасте. Потомство крыс, подвергавшихся действию стрессоров во время беременности, характеризуется большей пассивностью, повышенным уровнем тревожности и эмоциональности, а также снижением исследовательской активности.

2. Введение в организм беременных кон-

трольных крыс рыбьего жира способствует уменьшению уровня тревожности их потомства-самок, но не самцов в 1-месячном возрасте.

3. Рыбий жир, вводимый в организм беременных крыс, подвергавшихся хроническому непредсказуемому стрессу, способствует уменьшению процента каннибализма самками родившегося потомства и существенным образом изменяет поведение такого потомства. Эффективность предупреждения постстрессорных нарушений поведения крыс, перенесших пренатальный стресс, выше у самок, чем у самцов. Эффекты, вызванные рыбьим жиром, сохраняются в течение более продолжительного времени у потомства-самок, но не у самцов.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Оценить отдаленные последствия пренатального стресса на тонус коронарных сосудов и обоснование способов коррекции выявленных нарушений»

Литература

1. Prenatal stress and brain development / A. Charil [et al.] // Brain Res. Rev. – 2010 Oct. – Vol. 65, N 1. – P. 56–79.
2. Charani, K. Essential role of docosahexaenoic acid towards development of a smarter brain / K. Charani, M. Das, S. Das // Neurochem. Int. – 2015. Oct. – Vol. 89. – P. 51–62.
3. Long-chain polyunsaturated fatty acid status during pregnancy and maternal mental health in pregnancy and the postpartum period: results from the GUSTO study / M. F. Chong [et al.] // J. Clin. Psychiatry. – 2015 Jul. – Vol. 76, N 7. – P. e848–856.
4. Randomised controlled trial of effect of fish-oil supplementation on pregnancy duration / S. F. Olsen [et al.] // Lancet. – 1992 Apr. – Vol. 339, N 8800. – P. 1003–1007.
5. Neonatal fatty acid status and neurodevelopmental outcome at 9 years / C. de Jong [et al.] // Early Hum. Dev. – 2015 Oct. – Vol. 91, N 10. – P. 587–591.
6. Maternal docosahexaenoic acid feeding protects against impairment of learning and memory and oxidative stress in prenatally stressed rats: possible role of neuronal mitochondria metabolism / Z. Feng [et al.] // Antioxid. Redox Signal. – 2012 Feb. – Vol. 16, N 3. – P. 275–289.
7. n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: effects of early life stress / M. M. Pusceddu [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2015 Aug. – Vol. 58. – P. 79–90.
8. Docosahexaenoic acid partially ameliorates deficits in social behavior and ultrasonic vocalizations caused by prenatal alcohol exposure / K. A. Wellmann [et al.] // Behav. Brain Res. – 2015 Jun. – Vol. 286. – P. 201–211.
9. Prenatal exposure to a repeated variable stress paradigm elicits behavioral and neuroendocrinological changes in the adult offspring: potential relevance to schizophrenia / J. I. Koenig [et al.] // Behav. Brain Res. – 2005 Jan. – Vol. 156, N 2. – P. 251–261.
10. DeSantis, D. T. The mother-litter relationship in developmental rat studies: cannibalism vs. caring / D. T. DeSantis, L. W. Schmaltz // Dev. Psychobiol. – 1984 May. – Vol. 17, N 3. – P. 255–262.
11. Rogers, L. K. DHA supplementation: current implications in pregnancy and childhood / L. K. Rogers, C. J. Valentine, S. A. Keim // Pharmacol. Res. – 2013 Apr. – Vol. 70, N 1. – P. 13–19.
12. Omega-3 fatty acids can reverse the long-term deficits in hippocampal synaptic plasticity caused by prenatal alcohol exposure / A. R. Pattern [et al.] // Neurosci. Lett. – 2013 Sep. – Vol. 551. – P. 7–11.
13. Sex-specific effects of diets high in unsaturated fatty acids on spatial learning and memory in guinea pigs / M. Nemeth [et al.] // PLoS One. – 2015 Oct. – Vol. 10, N 10. – P. e0140485.
14. Gender differences in the n-3 fatty acids content of tissues / C. E. Childs [et al.] // Proc. Nutr. Soc. – 2008 Feb. – Vol. 67, N 1. – P. 19–27.
15. Human placental transcriptome shows sexually dimorphic gene expression and responsiveness to maternal dietary n-3 long chain polyunsaturated fatty acid intervention during pregnancy / E. M. Sedlmeier [et al.] // BMC Genomics. – 2014 Oct. – Vol. 15. – P. 941.

Поступила 15.01.2016 г.

Принята в печать 19.02.2016 г.

References

1. Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. Brain Res Rev. 2010 Oct;65(1):56-79.
2. Gharami K, Das M, Das S. Essential role of docosahexaenoic acid towards development of a smarter brain. Neurochem Int. 2015 Oct;89:51-62.
3. Chong MF, Ong YL, Calder PC, Colega M, Wong JX, Tan CS, et al. Long-chain polyunsaturated fatty acid status during pregnancy and maternal mental health in pregnancy and the postpartum period: results from the GUSTO study. J Clin Psychiatry. 2015 Jul;76(7):e848-56.
4. Olsen SF, Sørensen JD, Secher NJ, Hedegaard M, Henriksen TB, Hansen HS, et al. Randomised controlled trial of effect of fish-oil supplementation on pregnancy duration. Lancet. 1992 Apr;339(8800):1003-7.
5. de Jong C, Kikkert HK, Seggers J, Boehm G, Decsi T, Hadders-Algra M. Neonatal fatty acid status and neurodevelopmental outcome at 9 years. Early Hum Dev. 2015 Oct;91(10):587-91.
6. Feng Z, Zou X, Jia H, Li X, Zhu Z, Liu X, et al. Maternal docosahexaenoic acid feeding protects against impairment of learning and memory and oxidative stress

- in prenatally stressed rats: possible role of neuronal mitochondria metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2012 Feb;16(3):275-89.
7. Pusceddu MM, Kelly P, Ariffin N, Cryan JF, Clarke G, Dinan TG. n-3 PUFAs have beneficial effects on anxiety and cognition in female rats: effects of early life stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2015 Aug;58:79-90.
 8. Wellmann KA, George F, Brnouti F, Mooney SM. Docosahexaenoic acid partially ameliorates deficits in social behavior and ultrasonic vocalizations caused by prenatal alcohol exposure. *Behav Brain Res*. 2015 Jun;286:201-11.
 9. Koenig JI, Elmer G, Shepard PD, Lee PR, Mayo C, Joy B, et al. Prenatal exposure to a repeated variable stress paradigm elicits behavioral and neuroendocrinological changes in the adult offspring: potential relevance to schizophrenia. *Behav Brain Res*. 2005 Jan;156(2):251-61.
 10. DeSantis DT, Schmaltz LW. The mother-litter relationship in developmental rat studies: cannibalism vs. caring. *Dev Psychobiol*. 1984 May;17(3):255-62.
 11. Rogers LK, Valentine CJ, Keim SA. DHA supplementation: current implications in pregnancy and childhood. *Pharmacol Res*. 2013 Apr;70(1):13-9.
 12. Patten AR, Sickmann HM, Dyer RA, Innis SM, Christie BR. Omega-3 fatty acids can reverse the long-term deficits in hippocampal synaptic plasticity caused by prenatal alcohol exposure. *Neurosci Lett*. 2013 Sep;551:7-11.
 13. Nemeth M, Millesi E, Wagner KH, Wallner B3. Sex-specific effects of diets high in unsaturated fatty acids on spatial learning and memory in guinea pigs. *PLoS One*. 2015 Oct;10(10):e0140485.
 14. Childs CE, Romeu-Nadal M, Burdge GC, Calder PC. Gender differences in the n-3 fatty acids content of tissues. *Proc Nutr Soc*. 2008 Feb;67(1):19-27.
 15. Sedlmeier EM, Brunner S, Much D, Pagel P, Ulbrich SE, Meyer HH, et al. Human placental transcriptome shows sexually dimorphic gene expression and responsiveness to maternal dietary n-3 long chain polyunsaturated fatty acid intervention during pregnancy. *BMC Genomics*. 2014 Oct;15:941.

Received 15.01.2016

Accept 19.02.2016

Сведения об авторах:

Беляева Л.Е. – к.м.н., доцент, заведующая кафедрой патологической физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Федченко А.Н. – м.м.н., преподаватель кафедры патологической физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Лазуко С.С. – к.б.н., доцент, заведующая кафедрой нормальной физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»;

Лигецкая И.В. – ассистент кафедры патологической физиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра патологической физиологии. E-mail: lyudm.belyaeva2013@yandex.by – Беляева Людмила Евгеньевна.