

- Ogura // Japan J. Pharmacol. — 1975. — №25. — P.610-612.
4. Slabo G. Modified screening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenalin and serotonin in the brain region / G. Slabo, G.L. Kovacs, G.A Telegdy // Acta Physiol. — 1983. — Vol. 61, №1-2. — P.51-57.
 5. Cormana E. Purification of GABA on small columns of Dowex 50W: Combination with a Method for Separation of Biogenic Amines / E. Cormana, C. Vomes, V.Trolin // Acta Pharm. et toxic. — 1980. — №46. — P.235-240.
 6. Bernt E., Bergmeyer H.U. Methoden der enzymatischen analyze / E. Bernt, H.U. Bergmeyer. — Berlin, 1970. —Bd.3 — S.1659-1665.
 2. Taganovich A.D., Oletskiy E.I., Kotovich I.L. 2013, « Pathological biochemistry», Moskow: Binom, p. 448 (in Russian).
 3. Endo Y., Ogura Y.A. 1975, «Rapid and simple determination of histamine and poliamines», Japan J. Pharmacol, №25, pp.610-612.
 4. Slabo G., Kovacs G.L., Telegdy G.A 1983, «Modified screening method for rapid simultaneous determination of dopamine, noradrenalin and serotonin in the brain region», Acta Physiol., Vol. 61, №1-2, pp. 51-57.
 5. Cormana E., Vomes C., Trolin V. 1980, «Purification of GABA on small columns of Dowex 50W: Combination with a Method for Separation of Biogenic Amines», Acta Pharm. et toxic., №46, pp. 235-240.
 6. Bernt E., Bergmeyer H.U. 1970, « Methods of enzymatic analysis », Berlin, Vol. 3, pp.1659-1665.

References

1. Glozman G.M. 2012, «Neuropsychological diagnostics: qualitative and quantitative evaluation of data», Moscow: Meaning, 2012, p. 264 (in Russian).

*Впервые поступила в редакцию 02.04.2019 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 57.084.1: [599.323.45+612.397]

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3251599>

ЕМОЦІЙНО-ПОВЕДІНКОВІ РЕАКЦІЇ ЩУРІВ ПІСЛЯ ХАРЧУВАННЯ РІЗНИМИ ЖИРАМИ

Макаренко О.А.¹, Сьомік Л.І.¹, Левицький А.П.²

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, Одеса, Україна

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса, Україна, flavan.ua@gmail.com

ЭМОЦИОНАЛЬНО-ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС ПОСЛЕ ПИТАНИЯ РАЗЛИЧНЫМИ ЖИРАМИ

Макаренко О.А.¹, Сёмик Л.И.¹, Левицкий А.П.²

¹Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, Одесса, Украина

²Государственное учреждение «Институт стоматологии челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины», Одесса, Украина, flavan.ua@gmail.com

RATS EMOTIONAL-BEHAVIORAL REACTIONS AFTER FOOD OF DIFFERENT FATS

Makarenko O. A.¹, Semik L. I.¹, Levitsky A. P.²

¹Odessa National Mechnikov University, Odessa, Ukraine

²Institute of Stomatology and maxillo-facial surgery National Academy of Medical Science of Ukraine, Odessa, Ukraine

Summary/Резюме

Aim: The study of the influence of high-fat diet on the emotional and behavioral reactions of rats and biochemical parameters of the brain.

Materials and Methods: There were studied 36 rats. Dietary fats (usual sunflower oil, high oleic sunflower oil "Olivka", butter, palm oil, coconut oil) were introduced into the ration of rats in an amount of 15 %. Once a week with animals, they conducted research on the "Open Field" test. The animals were withdrawn from the experiment on the 61st day. In the brain, the content of malondialdehyde, catalase activity, urease, lysozyme and elastase were determined.

Results: It has been found that anxiety of rats increases and research activity decreases after adding palm oil and usual sunflower oil to the diet. The addition of high oleic sunflower oil "Olive" increases research activity and does not affect other indicators. Increased anxiety and decreased research activity may be due to biochemical changes in the brain of rats: a significant increase in the activity of elastase and urease against the background of reduced activity of catalase and lysozyme after the use of conventional sunflower oil, palm oil and butter. The high oleic sunflower oil "Olive" did not adversely affect the biochemical parameters of the brain of rats.

Conclusions: The long-term use of palm and sunflower oil as well as butter increases the anxiety of rats, which may occur as a result of an increase in urease activity in the brain, elastase against the background of a decrease in the activity of catalase.

Key words: rats, fat diet, emotional behavior.

126

У роботі представлені результати аналізу дії високожирового харчування на поведінкові реакції та на біохімічні показники головного мозку щурів. Виявлено, що тривожність щурів збільшується, а дослідницька активність знижується після додавання до раціону пальмової олії та звичайної соняшникової олії. Додавання високоолеїнової соняшникової олії «Оливка» підвищує дослідницьку активність та не впливає на інші показники. Підвищення тривожності та зниження дослідницької активності може бути пов'язано з біохімічними змінами в головному мозку щурів: збільшення активності еластази та уреази на тлі зниження активності каталази та лізоциму після вживання звичайної соняшникової олії, пальмової олії та вершкового масла. Високоолеїнова олія «Оливка» не мала негативного впливу на біохімічні показники головного мозку щурів.

Ключові слова: щурі, жирове харчування, емоційна поведінка.

В работе представлены результаты анализа влияния высокожирового питания на поведенческие реакции и биохимические показатели головного мозга крыс. Установлено увеличение уровня тревожности крыс и снижение исследовательской активности после добавления в рацион пальмового и обычного подсолнечного масла. Введение в рацион высокоолеинового подсолнечного масла «Оливка» повышало исследовательскую активность и не влияло на другие показатели. Повышение уровня тревожности и снижение исследовательской активности может быть связано с биохимическими изменениями в головном мозге крыс: увеличение активности эластазы и уреазы на фоне снижения активности каталазы и лизоцима после употребления обычного подсолнечного, пальмового и сливочного масел. Высокоолеиновое масло «Оливка» не имело негативного

влияния на биохимические показатели головного мозга крыс.

Ключевые слова: крысы, жировое питание, эмоциональное поведение.

Однією з причин, що забезпечують формування адаптаційних реакцій, є нераціональне харчування, зокрема, надмірне споживання тваринного жиру та холестерину [1]. Питання про формування адаптаційних реакцій організму при жировому навантаженні, співвідношення специфічних і неспецифічних проявів цих реакцій активно дискутується. Наприклад, на тлі підвищеного споживання холестерину змінюється функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи — від її гіперфункції на початкових етапах холестеринового навантаження до поступової нормалізації функціонування. Це дає підставу говорити про здатність високожирового раціону впливати на центральну нейроендокринну регуляцію адаптаційних процесів.

Для виявлення порушень нервової, сенсорної і вегетативної системах організму тварин в даний час застосовують тест «відкрите поле», який дозволяє оцінювати більш тонкі функціональні зміни, пов'язані з індивідуальною та соціальною поведінкою тварин [2]. Незважаючи на численні дослідження тварин за допомогою модифікованих тестів «відкрите поле» на тваринах, нами не було знайдено даних по впливу аліментарного жирового навантаження на їх поведінку.

Тому метою роботи було дослідження впливу високожирового харчування на емоційно-поведінкові реакції щурів та біохімічні показники головного мозку.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 36 білих лабораторних щурах (самці, 5-7 місяців), яких розподілили на 6 груп по 6 особин в кожній: 1-а група — інтактні тварини отримували стандартний раціон віварію; 2-га група — додавання зви-

чайної соняшникової олії («Смак сонця» ФОП «Марченко В.В.», Україна); 3-я група — високоолеїнової соняшникової олії «Оливка» (НПА «Одеська біотехнологія», Україна); 4-та група — вершкового масла (селянське, ВКФ «АГРОМАРИН», Україна); 5-та група — пальмової олії («Duke's RBD», Малайзія); 6-та група — кокосової олії «Bess» (PGFO Edible Oils SDN BHD Малайзія). Харчові жири вводили в раціон щурів в кількості 15 %.

Один раз в тиждень з тваринами проводили дослідження на тесті «Відкрите поле». Параметри орієнтовно-дослідницької діяльності щурів у тесті «відкрите поле» визначали загальноприйнятою методикою проводили протягом 3 хвилин [3]. При цьому реєструвалися такі поведінкові показники: горизонтальна і вертикальна рухова активність, кількість пересічених квадратів, стійок, норок, грумінгу та дефекацій. Статистичну обробку отриманих даних проводили загальноприйнятими методами [4].

Тварин виводили з експерименту на 61-й день під тіопенталовим наркозом (40 мг / кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Виділяли головний мозок, в гомогенатах якого (50 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфера рН 7,5) визначали вміст малонового діальдегіду [5], активність каталази [5], уреази [6], лізоциму [7] та еластази [5].

Результати та їх обговорення

Результати визначення горизонтальної активності щурів, які перебували на жировому харчуванні, наведені на рис. 1. У інтактних тварин на другому тижні відмічалось пригнічення горизонтальної рухової активності. Рівень її мав тенденцію до зниження в наступні тижні та значно знизився у кінці експерименту. Зниження горизонтальної активності

щурів інтактної групи свідчило про звикання тварин до умов проведення експерименту.

При додаванні звичайної соняшникової олії до раціону харчування щурів показник горизонтальної активності був в середньому в 2,5 — 3 рази більшим ніж в інтактній групі впродовж п'яти тижнів. Додавання до корму інших жирів суттєво не змінювало горизонтальну рухову активність щурів. Це говорить про те, що «Оливка», вершкове масло, пальмова та кокосова олії не підвищували тривожність щурів.

Дані вертикальної активності щурів (кількість стійок) представлені на рисунку 2. Цей показник знижувався майже у всіх групах, крім 2-ої та 5-ої груп, до раціону яких додавали соняшникову та пальмову олії відповідно. На п'ятому тижні дослідження вертикальна активність щурів, які отримували ці олії, активність щурів була в 2 рази вища, ніж

в інтактній та інших групах. Це свідчать про неспокійний стан тварин. Зниження показника рухової активності, а значить зменшення стресу і страху, відзначалось у щурів інтактної групи, а також при додаванні кокосової, високоолеїнової олії «Оливка» або вершкового масла.

Різновидом орієнтовно-дослідницької поведінки щурів є кількість обстежених отворів, що характеризує пізнавальну активність щурів. Результати цього дослідження наведено на рисунку 3. В інтактній групі цей показник не змінювався. При споживанні щурами соняшникової олії, і на деяких етапах дослідження вершкового масла, дослідницька активність щурів зменшувалась в 2,5 рази. При споживанні високоолеїнової олії рівень цього виду поведінки навпаки був в 1,5-3 рази більш ніж в контролі. Дослідницька активність щурів значно (в середньому 4-5 разів) зменшувалась при додаванні до раціону пальмової або кокосової олії.

Грумінг (косметична поведінка) щурів є важливою характеристикою поведінки тварин і тісно корелює з руховою активністю. Тому при дослідженні ця характеристика поведінки особливо цікава. Результати дослідження частоти грумінгу щурів наведено на рисунку 4. У інтактних щурів не виявили суттєвих змін частоти проявлення грумінга.

Додавання до раціону щурів звичайної соняшникової, пальмової олії та вершкового масла призводило до високої частоти грумінга. Найвищий рівень частоти грумінга відмічався після вживання пальмової олії. При додаванні високоолеїнової олії «Оливка» частота грумінга не змінювалася, а на останньому тижні спо-

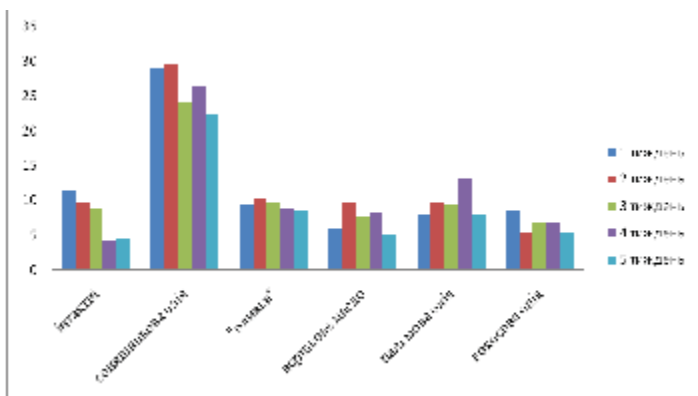


Рис. 1. Горизонтальна рухова активність щурів, які споживали різні харчові жири

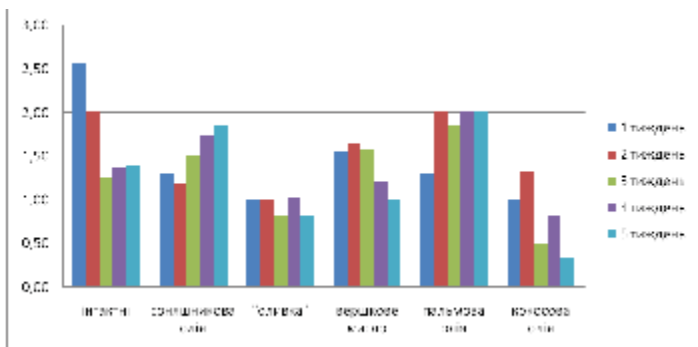


Рис. 2. Вертикальна рухова активність щурів, які споживали різні харчові жири

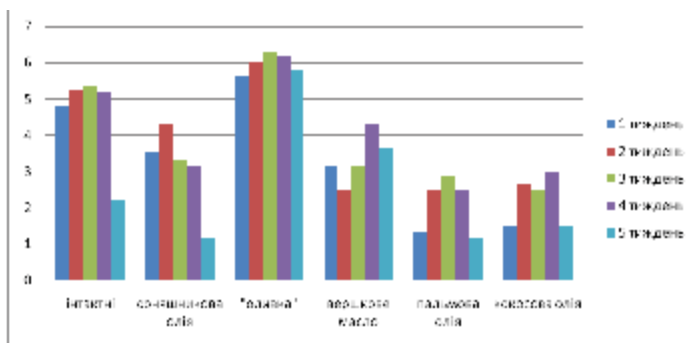


Рис. 3. Кількість обстежених отворів, щурами що отримували різні харчові жири

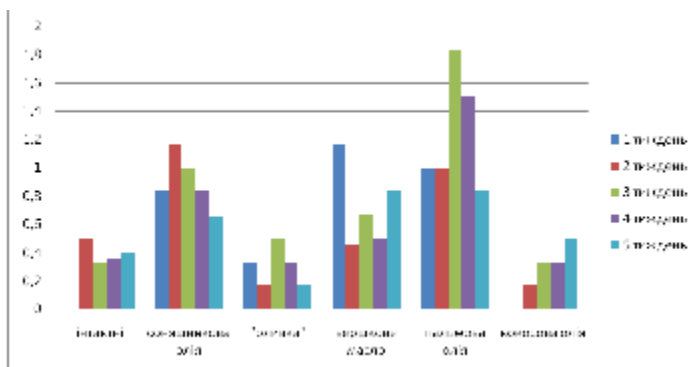


Рис. 4. Косметична поведінка щурів (частота тривожного грумінга), які споживали різні харчові жири

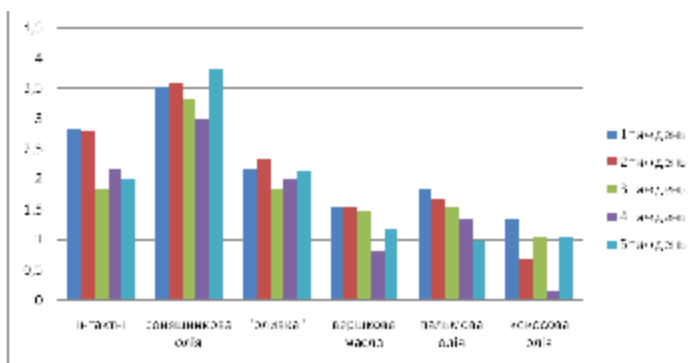


Рис. 5. Кількість дефекацій у щурів які отримували до раціону харчування різні харчові жири

стереження навіть знизилася в 2 рази. Після вживання кокосової олії цей показник був в межах норми.

Необхідно зауважити, що в якості показника емоційного статусу щурів значимість мають кількість дефекацій. Високий рівень дефікації додатково вказує на тривожність тварини, його занепокоєння і страх. Результати цього дослідження наведені на рисунку 5. Встановлено, що цей показник знижувався в інтактній групі в 1,5 рази в другій час-

тині спостережень. Вживання звичайної соняшникової олії значно збільшувало кількість дефекацій у щурів. Після отримання «Оливки», цей показник був незмінним. У щурів, які отримували вершкове масло, кокосову або пальмову олію, кількість дефекацій була знижено. Отримані дані не можна трактувати однозначно, оскільки встановлені зміни можуть бути пов'язані також з порушенням моторики шлунково-кишкового тракту внаслідок довготривалого вживання щурами великої кількості жиру.

Отримані дані по грумінгу і дефекації свідчать про те, що вживання звичайної соняшникової олії викликає стійкий тривожний стан у щурів. За результатами частоти грумінга, пальмову олію також можна віднести до харчових агентів, що підсилюють тривожність тварин.

Важливу роль в руховій активності, емоційній поведінці та орієнтовно-дослідницькій активності щурів відіграють особливості біохімічного обміну в головному мозку. Тому на наступному етапі провели біохімічний аналіз головного мозку щурів після вживання різних харчових жирів. Результати цього дослідження наведено в таблиці. Показано, що у мозку щурів спостерігалось збільшення активності уреазы в 4,1 рази після отримання звичайної соняшникової олії ($p < 0,001$), в 3,4 рази — після вершкового масла ($p < 0,001$), в 3,7 рази — після пальмової олії ($p < 0,001$). Споживання щурами «Оливки» або кокосової олії не впливало на активність уреазы в головному мозку щурів. Підвищення активності уреазы в

мозку щурів свідчить про порушення стану гепато-енцефалічного бар'єру, оскільки уреазу не утворюється соматичними клітинами, а має бактеріальне походження.

Активність лізоциму головного мозку щурів, які споживали соняшникові олії («Оливка» або звичайну) не змінювалась. Після додавання вершкового масла або кокосової олії активність лізоциму знижувалась на 36,1 %, після додавання пальмової олії — на 51,4 %. Відомості про роль лізоциму в головному мозку відсутні, але його присутність дозволяє припустити, що лізоцим виконує захисну функцію в головному мозку. Зниження його активності свідчить про негативний вплив пальмової, кокосової олії та вершкового масла на стан головного мозку щурів.

Достовірне зниження активності каталази в головному мозку щурів відмічено після вживання звичайної соняшникової олії ($p < 0,05$), вершкового масла ($p < 0,002$), пальмової та кокосової олій ($p < 0,001$). Після вживання щурами «Оливки» показник активності каталази залишився незмінним. Отримані дані говорять про пригнічення антиоксидантного захисту головного мозку в умовах споживання різних жирів. Наслідком цього є накопичення перексиду водню, який є токсином для головного мозку.

Малоновий діальдегід (МДА, кінцевий продукт перекисного окиснен-

ня ліпідів) в нормі присутній в головному мозку, оскільки виконує ряд функцій, але його надлишок є токсичним для головного мозку. Соняшникові олії та вершкове масло не викликали суттєвих змін рівня МДА. При вживанні пальмової або кокосової олій відмічалось достовірне зниження вмісту МДА, що є негативним наслідком тривалого вживання цих жирів.

Активність еластази в головному мозку щурів не змінювалась після додавання до раціону «Оливки» або кокосової олії. Після вживання звичайної соняшникової олії активність еластази збільшилася на 24,6 %, вершкового масла — на 10,3 %, пальмової олії — на 48,0 %.

Таким чином, проведені дослідження емоційної та орієнтовно-дослідницької поведінки щурів після вживання різних харчових жирів дозволили встановити наступні закономірності. Пальмова олія та у великій мірі звичайна соняшникова олія підсилювали тривожність щурів, яка проявлялась у високій руховій активності (стійки та лінії) поряд з частим грумінгом та дефекаціями. У цих тварин відбувалося підвищення активності уреазу, еластази на тлі зменшення активності каталази в головному мозку. Результатом цих змін може бути накопичення в мозку щурів уреазу, продукту її гідролізу NH_3 , а також пептидів і H_2O_2 , які є нейротоксинами та можуть збільшувати тривожність щурів.

Таблиця

Біохімічні показники головного мозку щурів, які вживали різні харчові жири

Групи щурів	Активність уреазу мк-кат/кг	Активність лізоциму од/кг	Активність каталази мкат/кг	Вміст МДА ммоль/кг	Активність еластази мк-кат/кг
Інтактна	$0,09 \pm 0,02$	72 ± 5	$3,35 \pm 0,09$	$67,4 \pm 3,7$	$17,5 \pm 0,9$
Соняшникова олія	$0,37 \pm 0,05$ $p < 0,001$	60 ± 7 $p > 0,2$	$3,01 \pm 0,14$ $p < 0,05$	$62,9 \pm 3,0$ $p > 0,4$	$21,8 \pm 1,1$ $p < 0,01$
Оливка	$0,14 \pm 0,02$ $p > 0,5$	65 ± 5 $p > 0,4$	$3,24 \pm 0,13$ $p > 0,5$	$60,3 \pm 2,1$ $p > 0,1$	$18,0 \pm 0,7$ $p > 0,6$
Вершкове масло	$0,31 \pm 0,04$ $p < 0,001$	46 ± 5 $p < 0,002$	$2,89 \pm 0,11$ $p < 0,002$	$60,1 \pm 5,2$ $p > 0,2$	$19,3 \pm 0,7$ $p > 0,2$
Пальмова олія	$0,33 \pm 0,06$ $p < 0,001$	35 ± 5 $p < 0,001$	$2,72 \pm 0,11$ $p < 0,001$	$53,5 \pm 1,8$ $p < 0,002$	$25,9 \pm 0,7$ $p < 0,001$
Кокосова олія	$0,16 \pm 0,03$ $p > 0,1$	46 ± 6 $p < 0,002$	$2,91 \pm 0,14$ $p < 0,001$	$51,5 \pm 3,2$ $p < 0,002$	$20,1 \pm 1,3$ $p > 0,2$

Дослідницька активність щурів (кількість досліджуваних норок) значно пригнічувалась після вживання вершкового масла, пальмової, кокосової та звичайної соняшникової олії. Високоолеїнова соняшни-

ва олія «Оливка» не мала істотного впливу на всі досліджувані показники, за винятком норкового рефлексу. Три-валеве вживання «Оливки» підвищувало орієнтовно-дослідницьку активність щурів, що можна розглядати як позитивний фактор її вживання.

Висновки

- 1) Довготривале вживання пальмової та звичайної соняшникової олії, а також вершкового масла збільшує тривожність щурів.
- 2) Збільшення тривожності тварин можливо відбувалося в результаті підвищення в головному мозку активності уреази, еластази на тлі зменшення активності каталази. Оскільки ці зміни можуть приводити до накопичення нейротоксинів NH_3 , пептидів і H_2O_2 , які можуть збільшувати тривожність щурів.
- 3) Зниження дослідницької активності у щурів після вживання пальмової та кокосової олій ймовірно може бути пов'язано з низькими показниками МДА та активністю лізоциму в головному мозку щурів.
- 4) Високоолеїнова соняшникова олія «Оливка» не впливала на показники емоційної поведінки, але істотно підвищувала дослідницьку активність тварин.

Література

1. Доценко В.А. Теоретические и практические проблемы питания здорового и больного человека. — Вопр. питания. — 2004. — № 6. — С. 36-39.
2. Судаков С.К., Назарова Г.А., Алексеева Е.В. и др. Определение уровня тревожности у крыс в тестах «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт» и тесте Фогеля // Бюл. эксп. биологии и медицины. — 2013. — Т. 155, № 3. — С. 268-270.
3. Родина В. И., Крупина Н. А., Крыжановский Г. Н., Окнина Н. Б. Новый метод оценки тревожно-фобических состояний у крыс // Высшая нервная деятельность. — 1993. — № 43 (5). — С. 1006-1017.

4. Коросов А. В., Горбач В.В. Компьютерная обработка биологических данных -Петрозаводск: изд-во ПетрГУ, 2007. -76 с.
5. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости (метод. рекомендации) / А. П. Левицкий, О. В. Денга, О. А. Макаренко [и др.] - Одесса, 2010. - 16 с.
6. Гаврикова Л.М., Сегень И.Т. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области // Стоматология. - 1996. - Спец. вып. - С. 40-50.
7. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков. — Одесса: КП ОГТ, 2005. — 74 с.

References

1. Dotsenko V.A. Theoretical and practical problems of nutrition of a healthy and sick person. Voprosy pitaniya 2004; 6: 36-39.
2. Sudakov S.K., Nazarova G.A., Alekseeva E.V. Determination of the level of anxiety in rats in the tests "open field", "elevated plus-maze" and test Fogelya. Buleten experimentalnoy biologii i meditsiny. 2013; 155, 3: 268-270.
3. Rodina V. I., Krupina N. A., Kryzhanovskiy G. N., Oknina N. B. A new method for assessing anxiety-phobic states in rats. Vysshaya nervnaya deyatel'nost. 1993; 43, 5: 1006-1017.
4. Korosov A. V., Gorbach V.V. Komputernaya obrobotka biologicheskikh danykh [Computer processing of biological data]. Petrozavodsk, PetrGU, 2007: 76.
5. Levitsky A P., Denga O. V., Makarenko O. A [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.
6. Gavrikova L. M., Segen I. T. Urease activity of oral fluid in patients with acute odontogenic infection of maxillofacial area. Stomatologiya 1996; Special vol: 40-50.
7. Levitskiy A P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.

*Впервые поступила в редакцию 03.04.2019 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*