

임신기부터 성장기 동안 Docosahexaenoic Acid 보충에 의한 흰쥐의 공간기억력 개선 효과

임 선 영*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received August 28, 2007 / Accepted September 10, 2007

Effect of Supplementation with Docosahexaenoic Acid from Gestation to Adulthood on Spatial Learning Performance in Rat. Sun Young Lim*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan, 609-761, Korea* - The effect of supplementation with docosahexaenoic acid into n-3 fatty acid deficient diet on improvement of learning related brain function was investigated. On the second day after conception, Sprague Dawley strain dams were subjected to a diet containing either n-3 fatty acid deficient (Def) or n-3 fatty acid deficient + docosahexaenoic acid (Def+DHA). After weaning, male pups were fed on the same diet of their respective dams until adulthood. Motor activity and Morris water maze tests were measured at 10 weeks old. In motor activity test, there were no statistically significant differences in moving time and moving distance between the Def and Def+DHA diet groups. The n-3 fatty acid deficient with DHA (Def+DHA) group exhibited a shorter escape latency, swimming time and swimming distance ($P<0.05$) compared to the n-3 fatty acid deficient group (Def) but there was no difference in resting time and swimming speed between the experimental diet groups. In memory retention trial, the number of crossing of the platform position (region A) was significantly greater than those of other regions for the Def+DHA group. However, the Def group swam randomly without preference for the previsions platform location, indicating poorer memory retention. From those results, supplementation with DHA into the n-3 fatty acid deficient diet improved the spatial learning ability in rats as assessed by Morris water maze test.

Key words – Docosahexaenoic acid, Morris water maze, spatial learning, brain function

서 론

Docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3)는 기억, 학습 등 지능과 사고를 요구하는 뇌세포에 풍부하게 함유되어 있고 뇌세포 인지질막의 주요 불포화지방산들 중의 하나이다. 최근 식생활의 서구화 영향으로 한국인의 식단도 육류 식품과 패스트 식품이 차지하는 비중이 증가하였다. 따라서 n-3 지방산 및 n-6 지방산 섭취 불균형이 야기되어 포화지방산, 트랜스 지방산 및 n-6 지방산의 섭취 비율이 높아지는 추세이다. DHA는 특히 생선이나 조개류 등 주로 어패류에만 존재하는 n-3 계열 지방산으로 생선의 섭취가 권장되는 이유도 바로 n-3 지방산의 적절한 섭취 때문이다. 최근 많은 연구들로부터 장기적인 n-3 지방산 결핍은 여러 가지 뇌 기능 장애를 일으키는 것으로 알려졌다[2,6,12,18,20] Yamamoto 등[20]은 흰쥐의 명암구별 실험에서 해바라기유를 섭취한 군의 경우 들깨유를 섭취한 군에 비하여 명암구별 능력과 학습효과가 떨어짐을 관찰하였다. Carrie 등[2]은 동물의 불안감을 측정하는 elevated plus maze test에서 n-3 지방산 결핍은 n-3 지방산을 충분히 섭취한 군에 비하여 불안감이 증가하였다고 보고하였다. Guinea pig를 이용한 Weisinger 등[18]의 연구에서 eletroretinogram를

이용하여 망막에 의한 빛의 감지력을 측정했을 때 n-3 지방산 결핍군은 n-3 지방산 적절군에 비하여 비정상적인 eletroretinogram 반응을 보였다고 보고하였다. Long Evans계 흑백 쥐를 이용한 Moriguchi 등[12]의 연구에서도 n-3 지방산이 결핍된 군은 목적 플랫폼까지 수영해서 걸리는 시간이 n-3 지방산이 적절히 함유된 군보다 더 길었으며 이전의 목적 플랫폼의 자리를 기억하는데 결함이 있음을 보고하였다. Greiner 등[6]은 후각에 기초로 한 실험에서 n-3 지방산이 결핍된 군의 경우 식별 및 기억 능력에 결함을 보였다고 보고하였다. 동물의 공격성향에 관한 연구로 DeMar 등[4]은 이유기부터 성장기까지 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 쥐의 경우 뇌의 DHA 함량이 약 40% 정도 감소되었고 n-3 지방산 적절군에 비하여 공격적인 행동 패턴을 보였다고 보고하였다. 생화학적 연구에서 Delion 등[3]은 흰쥐의 경우 만성적인 n-3 지방산 결핍은 dopamine 신경전달 시스템을 변형시켜 대뇌의 내인성 dopamine 함량 감소를 나타내었다고 보고하였다. 이상의 결과를 종합해 보면 n-3 지방산의 결핍은 뇌 기능 손상을 일으키며 이러한 현상은 뇌 내의 DHA 함량 감소와 밀접한 관련을 가지므로 뇌 기능 향상성을 위해서는 뇌 내의 일정한 농도의 DHA 유지가 필요하다고 여겨진다.

N-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA 첨가했을 때 뇌 기능 개선효과에 관련된 실험으로 Willatts 등[19]은 DHA와 arachidonic acid (AA)가 함유된 분유를 섭취한 유아의 경우 다

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

불포화지방산이 결핍된 대조군에 비하여 문제 해결능력이 우수함을 관찰하였다. Suzuki 등[17]은 ICR계 마우스를 이용하여 DHA를 많이 함유한 생선 기름의 섭취는 palm oil을 섭취한 대조군에 비해 미로 기억학습효과가 개선되었다고 발표하였다. 또한 DHA는 여성이 임신과 분만 이후 종종 겪는 우울증 예방에 효과가 있는 것으로 보고된 바가 있다[7]. Hibbeln 등[7]은 미 대륙의 경우 동양인에 비하여 어유 섭취 빈도가 낮아 결국 혈중 DHA 함량도 적은 것을 관찰 하였으며 이러한 DHA 함량의 감소는 임신 후 우울증 증가와 매우 밀접한 관련이 있다고 언급하였다. 따라서 본 연구에서는 임신기부터 성인기까지 n-3 지방산이 결핍된 식이군과 n-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA를 첨가한 식이군으로 나누어 흰쥐를 사육한 후 성인이 되었을 때 Morris water maze test를 이용하여 이들 두 식이군 간의 공간 기억 학습능력을 측정하여 DHA 보충에 의한 뇌 기능 개선효과에 대하여 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물의 사육 및 실험식이

본 실험에서는 임신 2일된 암컷 Sprague Dawley (SD)계 흰쥐 20 마리를 Charles River 실험실 (Portage, MI)로부터 구입하여 각각 10마리씩 두 군으로 나누어 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)과 DHA가 첨가된 식이(Def +DHA group)로 임신기간 및 수유기동안 사육하였다. 신생 쥐가 이 유기가 되었을 때 각각 암컷 쥐로부터 1마리씩의 수컷쥐를 취하여 어미쥐의 식이와 동일한 식이로 10주령까지 사육하였다. 실험에 사용된 식이는 지방산의 양이 변형된 AIN-93G 표준식이[15]이고 실험식이와 음용수는 실험기간동안 자유 섭취방법으로 급여하였다. 적정 환경은 온도 23±1℃, 상대습도, 명암 12 시간 주기였다. N-3 지방산이 결핍된 식이군(n-3 Deficient group)의 지방산 조성은 17.6% linoleic acid (LA), 0.08% linolenic acid (LNA)이며 DHA는 함유되어 있지 않았고 DHA 첨가 식이군의 경우는 17.5% LA, 0.08% LNA 및 10.2% DHA를 함유하였다(Table 1).

일반적인 동물 행동 양상 검사 실험 (Motor activity test)

실험동물들이 10주령이 되었을 때 일련의 동물 행동 학습 실험들이 행해졌다. 먼저 motor activity 실험을 행하여 동물들의 자발적인 운동성을 측정하였다. 각각 실험쥐들을 bedding이 깔려져 있는 쥐용 case (25cm × 45cm × 20cm)에 넣고 비디오카메라를 이용하여 이들의 moving distance와 moving time를 30분간 측정하였고 이러한 실험은 4일 연속 같은 시간에 측정하였다[12].

Morris water maze 실험

Morris water maze test는 쥐의 공간 기억 학습 능력을 평

Table 1. Diet composition and fatty acid composition of diet

Ingredient	Amount (g/100g)	
Casein (vitamin free)	20	
Carbohydrate	60	
Corn starch	15	
Sucrose	10	
Dextros	19.9	
Maltose-dextrin	15	
Cellulose	5	
Salt mix.	3.5	
Vitamin mix.	1	
L-Cystine	0.3	
Choline bitartrate	0.25	
tert-Butylhydroquinone	0.002	
Fat:	n-3 Deficient diet	n-3 Deficient +DHA diet
Hydrogenated coconut oil	7.53	5.8
Safflower oil	2.1	2.1
Oleic acid	0.37	
DHASCO		2.1
Fatty acid composition		
Saturates	71.9	59.4
Monounsaturates	8.9	10.9
Polyunsaturates		
18:2n-6	17.6	17.5
18:3n-3	0.08	0.08
22:6n-3		10.2

가하는 방법으로 널리 사용되어 왔다[13,16]. 물탱크를 임의로 4등분하여 즉 A, B, C, D의 지역으로 나누고 서로 다른 두 개의 시작 포인트를 정하였고 벽면에 있는 은박지와 전기 코드가 쥐에게 방향성에 대한 신호로 작용하였다. 물의 온도는 21℃ 가량이며 1일째는 수영 훈련기간으로 실험쥐를 자유 수영시켰고 2일째 가시형태의 플랫폼을 A 지역 중앙에 수위보다 1 cm 높게 두어 실험쥐가 수영하면서 가시형태의 플랫폼이 보이도록 하였다. 실험쥐가 수영해서 목적지까지 걸리는 시간과 swimming speed를 videomax를 이용하여 측정하였다. 3일째부터는 A 지역 중앙에 가시형의 platform 대신에 보기 힘든 플랫폼(hidden platform)으로 치환하였고 수면에서 약 1 cm가량 아래의 높이에 두었으며 실험쥐가 목적 플랫폼까지 걸리는 시간을 측정하였다(escape latency). 실험쥐가 성공적으로 목적 플랫폼에 도착하면 30초간 그곳에서 휴식시간을 주고 만약 90초 내에 도착하지 못하면 손으로 목적지까지 안내해 주어 30초간 휴식하게 하였다. 이러한 실험은 하루에 두 번, 다른 시작 포인트에서 측정되었고 4일 연속 진행되었다(learning trial). 실험 마지막 날에는 기존에 있었던 플랫폼을 제거하고 플랫폼이 있었던 A 지역에 대한 기억력을 지나가는 횟수로 측정하였다(memory retention trial). 즉 다른 지역인 B, C, D와 비교했을 때 A 지

역을 지나가는 횟수가 많을수록 공간 기억력이 우수한 것으로 판정하였고 A, B, C, D 지역의 구별 없이 무작위로 수영하는 경우 공간 기억력이 떨어지는 것으로 판단하였다. 또한 목적 플랫폼까지 걸린 시간인 escape latency를 다시 swimming time과 resting time를 나누어 실험동물의 전반적인 운동력을 측정하였고, swimming distance와 swimming speed도 아울러 측정하였다.

통계처리

실험결과는 Mean ± SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 Statistica program (Statsoft, Tulsa, OK)을 이용하여 repeated measures one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Tukey's HSD (Honest Significant Difference) test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

실험쥐의 운동성 비교 (Motor activity test)

Motor activity 실험을 행하여 주어진 시간 동안 쥐들이 움직인 시간과 움직인 거리를 측정하여 동물들의 자발적인 운동성을 검토한 결과, 주어진 시간 내 움직인 시간의 경우, n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)과 DHA가 첨가된 식이군(Def +DHA group)간에 유의적 차이를 관찰할 수가 없었고 총 움직인 거리에도 두 군 간에 유의적 차이가 없었다(Fig. 1).

Morris water maze를 이용한 쥐의 공간기억력 비교

학습효과(learning trial) 실험에서 두 식이군 모두 반복된 실험으로 시간의 경과와 더불어 목적 플랫폼까지 걸리는 시간(escape latency)이 단축되었다(Fig. 2). 그러나 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 경우, 목적 플랫폼까지 걸리는 시간이 DHA 첨가 식이군(Def +DHA group)에 비하여 유의적으로 길었음을 관찰할 수가 있었다(p<0.05). 실험 3 일째 DHA가 첨가된 식이군(Def +DHA group)의 경우, 목적 플랫폼까지 찾아가는 시간이 약 18초였으며 4일째도 비슷한 시간이므로 본 실험조건에서 최소 걸리는 시간으로 여겨진다. 반면, n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 쥐(Def group)의 경우, 4일째에도 여전히 목적 플랫폼까지 찾아가는 시간이 DHA 첨가군(Def +DHA group)에 비해 길었음을 관찰 할 수가 있었다. 이는 임신부터 성인이 될 때 까지 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 쥐의 경우(Def group), DHA 첨가 식이로 사육된 쥐(Def +DHA group)보다 공간 기억 학습효과가 떨어짐을 의미한다. Fig. 3은 두 식이군 간의 수영한 거리(swimming distance)와 수영 속도(swimming speed)를 나타낸 것으로 예상하였듯이 n-3 지방산이 결핍된

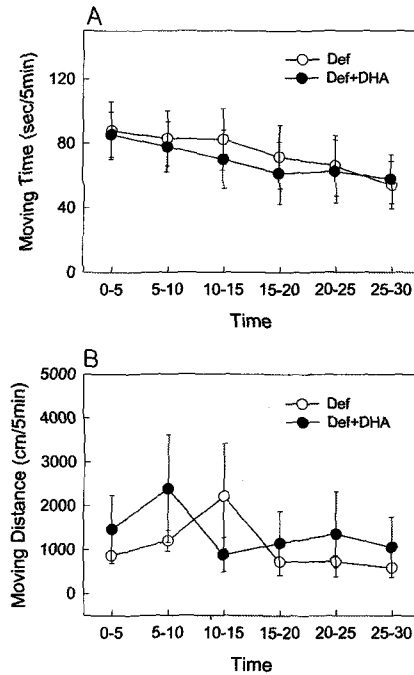


Fig. 1. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid on moving time (A) and moving distance (B) in the motor activity test. The values are presented as the mean ± SEM, with n=8-10 rats.

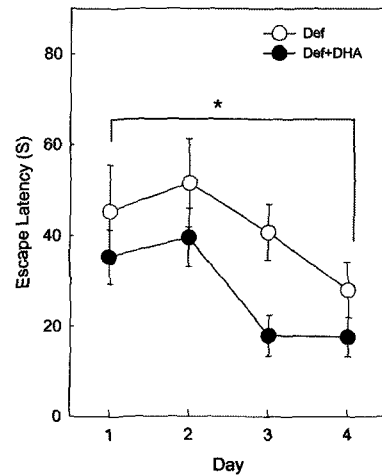


Fig. 2. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid on escape latency in the Morris water maze test. The values are presented as the mean ± SEM, with n=8-10 rats. *The differences in escape latency between the experimental groups are significantly different at P<0.05 by a repeated measures, one-way ANOVA.

식이군(Def group)의 경우, DHA 첨가 식이군(Def +DHA group)에 비해 수영 풀에서 움직인 거리가 긴 것(p<0.05)을 알 수가 있고 이러한 결과는 목적지까지 걸리는 시간과 비례 하였음을 알 수가 있었다. 수영 속도에는 두 군 간에 유의적 차이가 없었으므로 앞서 자발적인 운동력 결과와 일치하여

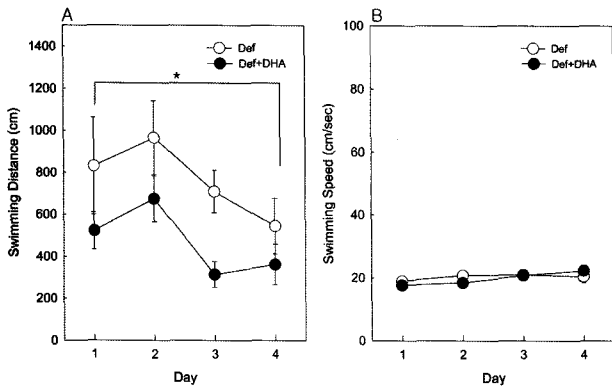


Fig. 3. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid on swimming distance (A) and swimming speed (B). The values are presented as the mean \pm SEM, with $n=8-10$ rats. The differences in swimming distance between the experimental groups are significantly different at $P<0.05$ by a repeated measures, one-way ANOVA. There was no significant difference in swimming speed between the experimental groups.

쥐의 기본적인 운동 능력에는 두 식이군 간에 차이가 없음을 알 수가 있었다. Fig. 4에서는 두 식이군의 쥐들이 목적 플랫폼까지 걸린 시간을 수영한 시간(swimming time)과 쉬고 있는 시간(resting time)으로 나누어 살펴보았다. 쉬는 시간을 측정하는 이유로는 어떤 실험쥐의 경우 여러 번 반복된 실험의 경우 수영하지 않아도 일정 시간이 지나면 실험이 종료됨을 인식하여 수영을 하지 않는 경우도 있기 때문이며 본 실험에서는 두 식이군 간에 쉬는 시간의 차이가 없었고 앞서의 지적한 경우처럼 계속 쉬어 있는 동물도 없었음을 관찰할 수가 있었다. 수영 시간의 경우에도 n-3 지방산이 결핍된 식이(Def group)로 사육된 쥐의 경우 DHA가 첨가된 식이(Def +DHA group)로 사육된 쥐보다 수영한 시간이 유의적으로 길었다($p<0.05$). 마지막으로 학습효과 실험이 끝난 후에 A 지역 중앙에 위치한 목적 플랫폼을 제거한 후 목적지에 대한 기억력을 검사한 결과(memory retention trial)는 Fig. 5와 같다. N-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 경우, 원래 목적 플랫폼이 있었던 지역인 A에 대한 기억력이 낮아서 A 지역을 지나가는 횟수가 다른 지역인 B, C, D를 지나가는 횟수와 유의적 차이가 없었다. 이는 목적지에 대한 공간 기억력이 상당히 저하되었음을 의미한다. 반면, DHA가 첨가된 식이군(Def +DHA group)의 경우, 목적 플랫폼이 있었던 A 지역에 대한 기억으로 A 지역에 대한 선호도가 높았으며 다른 지역인 B, C, D보다 지나가는 횟수가 유의적으로 많았음을 관찰할 수가 있었다($p<0.05$). Lim과 Suzuki[9]는 약령과 노령 마우스에 DHA를 첨가한 식이로 5개월간 사육한 후 미로 기억 학습능력을 측정한 결과 n-3 지방산이 결핍된 식이군에 비하여 물이 있는 출구까지 걸리는 시간이 짧았으며 미로 중간 블록에 들어가 머무는 횟수도 적었다고 보고

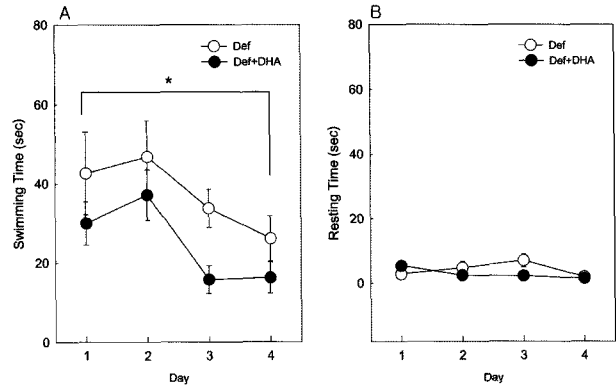


Fig. 4. Fractional analysis of the escape latency in the Morris water maze test. The swimming (A) and resting (B) times are presented as the mean \pm SEM, with $n=8-10$ rats. The differences in swimming time between the experimental groups are significantly different at $P<0.05$ by a repeated measures, one-way ANOVA. There was no significant difference in resting time between the experimental groups.

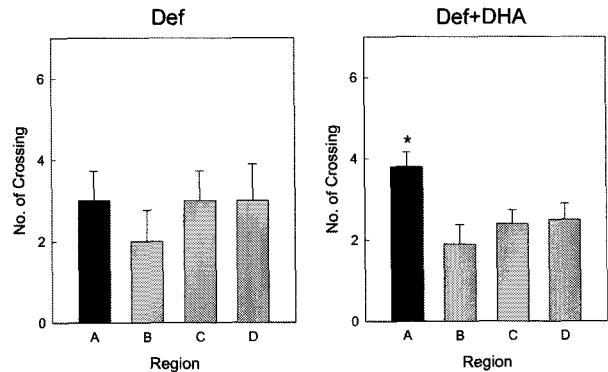


Fig. 5. Effect of supplementation with docosahexaenoic acid on memory retention trial. The number of crossings of the platform position (region A; closed column) and the corresponding imaginary positions (region B-D; open column) are presented as the mean \pm SEM, $n=8-10$ rats. $p<0.05$, compared with region A

하였다. 또한 DHA를 0.5%, 1% 및 2% 농도별로 각각 첨가하였을 때 2% DHA 첨가 농도에서 가장 높은 기억 학습효과를 관찰하였다고 보고하였다[11]. DHA 섭취기간과 미로 기억 학습능력과의 관련성을 알아보기 위한 Lim과 Suzuki 연구[10]에서 DHA를 1주, 2주, 3주 및 1달 동안 섭취시킨 결과 뇌 내 DHA 함량은 섭취기간 2주 이후부터 대조군인 palm oil 식이군에 비하여 유의적으로 증가하였으나 미로 기억 학습효과는 1달 동안 섭취시킨 후에 기억 학습능력이 유의적으로 개선됨을 보고하였다. Gamoh 등[5]은 만성적인 DHA 섭취는 기억력을 개선시키고 오히려 뇌의 지질과산화물 함량을 감소시켜 신경조직의 환경을 바람직하게 유지시킨다고 보고하였다. Okada 등[14]도 21일간의 만성적인 DHA 섭취

가 공간 기억 학습능력을 개선시켰다고 보고하였다. 생화학적 연구에서 Kim 등[8]은 DHA가 신경세포막의 phosphatidylserine (PS)의 합성을 촉진시켰고 이에 촉진된 PS는 Raf-1 단백질을 세포막으로 이동시켜 down-regulation 반응으로 세포 분화 및 성장을 유도하는 신호 전달 체계로 진행시켜 결국 신경세포의 apoptosis를 예방하는 효과가 있다고 보고하였다. 또한 n-3 지방산이 결핍된 식이에 DHA 첨가는 해마의 신경돌기의 성장을 촉진시켜 상대적으로 짧은 신경돌기를 정상의 길이를 가진 신경돌기로 성장시켰다고 보고되었다[1]. 따라서 DHA는 뇌세포의 사멸에 의한 감소를 방지하고 활성화할 수 있기 때문에 학습능력이나 기억력을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다. 특히 산모나 유아의 두뇌 발달 뿐만 아니라 성인의 뇌세포의 사멸을 방지하기 위해서는 DHA 성분이 많이 들어 있는 생선을 자주 먹는 것이 바람직하다고 생각된다. 인간은 20-30대가 되면 뇌세포가 하루에 10만 개씩 감소하므로 뇌세포의 사멸을 방지하기 위해서는 포도당과 같은 에너지를 충분히 공급하는 것도 중요하겠지만 뇌세포의 중요 구성성분인 DHA를 충분히 공급하는 것도 중요하다고 사료된다.

요 약

SD계 흰쥐를 사용하여 motor activity 실험에서 동물들의 자발적인 운동성을 측정된 결과, 주어진 시간 내 움직인 시간과 움직인 거리에는 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)과 DHA가 첨가된 식이군(Def +DHA group)간에 유의적 차이를 관찰할 수가 없었다. 학습효과 실험에서 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 경우 목적 플랫폼까지 걸리는 시간이 DHA 첨가 식이군(Def +DHA group)에 비하여 유의적으로 길었음을 관찰할 수가 있었다($p < 0.05$). 수영한 거리(swimming distance)와 수영 속도(swimming speed)의 경우 수영 속도에는 유의적 차이가 없었으나 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 경우, DHA 첨가 식이군(Def +DHA group)에 비해 수영 풀에서 움직인 거리가 유의적으로 길었다($p < 0.05$). 두 식이군의 흰쥐들이 수영한 시간(swimming time)과 쉬고 있는 시간(resting time)의 경우, 쉬는 시간에는 유의적 차이가 없었으나 수영 시간 또한 n-3 지방산이 결핍된 식이(Def group)로 사육된 쥐가 DHA가 첨가된 식이로 사육된 쥐(Def +DHA group)보다 수영한 시간이 유의적으로 길었다($p < 0.05$). 기억력 테스트에서 n-3 지방산이 결핍된 식이군(Def group)의 경우 원래 A 지역에 대한 기억이 낮아서 A 지역을 지나가는 횟수가 다른 지역 B, C, D를 지나가는 횟수와 유의적 차이가 없었다. 반면, DHA가 첨가된 식이군(Def +DHA group)의 경우 목적 플랫폼이 있었던 A 지역에 대한 기억으로 다른 지역인 B, C, D보다 지나가는 횟수가 유의적으로 많았음을 관찰하였다($p < 0.05$). 이상

의 결과로부터 임신에서부터 성인이 될 때까지 n-3 지방산이 결핍된 식이로 사육된 쥐와 비교할 때 DHA가 첨가된 식이로 사육된 흰쥐가 Morris water maze를 이용한 공간기억력 실험에서 우수한 기억 학습효과를 나타냄을 알 수가 있었고 이러한 결과는 n-3와 n-6 지방산의 균형적인 섭취의 중요성을 부각시키고 있다.

감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단 우수여성과학자도약연구지원사업(KRF-2005-204-F00020) 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Calderon, F. and H. Y. Kim. 2004. Docosahexaenoic acid promotes neurite growth in hippocampal neurons. *J. Neurochem.* **90**, 979-988.
2. Carrie, I., M. Clement, D. Javel, H. Frances and J. M. Bourre. 2000. Phospholipid supplementation reverses behavior and biochemical alterations induced by n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency in mice. *J. Lipid Res.* **41**, 473-480.
3. Delion, S., S. Chalon, J. Herault, D. Guilloteau, J. C. Besnard and G. Durand. 1994. Chronic dietary α -linolenic acid deficiency alters dopaminergic and serotonergic neurotransmission in rats. *J. Nutr.* **124**, 2466-2476.
4. DeMar, J. C., K. Ma, J. M. Bell, M. Igarishi, D. Greenstein and S. Rapoport. 2005. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acid deprivation in rats following weaning increases their behavioral depression and aggression test scores. *J. Lipid Res.* **47**, 172-180.
5. Gamoh, S., M. Hahimoto, K. Sugioka, M. Shahdat-Hossain, Y. Misawa and S. Masumura. 1991. Chronic administration of docosahexaenoic acid improves reference memory-related learning ability in young rats. *Neurosci.* **93**, 237-241.
6. Greiner, R. S., T. Moriguchi, B. M. Slotnick, A. Hurrion and N. Salem. 2001. Olfactory discrimination deficits in n-3 fatty acid-deficient rats. *Physiol. Behav.* **72**, 379-385.
7. Hibbeln, J. R. and N. Salem. 2001. Omega-3 fatty acids and psychiatric disorders. pp. 3-22. In *Fatty acids*, Mostofsky et al. editors, Humana Press Inc., Totowa.
8. Kim, H. Y., M. Akbar, A. Lau and L. Edsall. 2000. Inhibition of neuronal apoptosis by docosahexaenoic acid (22:6n-3). Role of phosphatidylserine in antiapoptotic effect. *J. Biol. Chem.* **275**, 35215-35223.
9. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2000. Intakes of dietary docosahexaenoic acid ethyl ester and egg phosphatidylcholine improve maze-learning ability in young and old mice. *J. Nutr.* **130**, 1629-1632.
10. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2001. Changes in maze behavior of mice occur after sufficient accumulation of docosa-

- hexaenoic acid in brain. *J. Nutr.* **131**, 319-324.
11. Lim, S. Y. and H. Suzuki. 2002. Dose-response effect of docosahexaenoic acid ethyl ester on maze behavior and brain fatty acid composition in adult mice. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **72**, 77-84.
 12. Moriguchi, T., R. Greiner and N. Salem. 2000. Behavioral deficits associated with dietary induction of decreased brain docosahexaenoic acid concentration. *J. Neurochem.* **75**, 2563-2573.
 13. Morris, R. 1984. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Methods* **11**, 47-60.
 14. Okada, M., T. Amamoto, M. Tomonaga, A. Kawachi, K. Yazawa, K. Mine and M. Fujiwara. 1996. The chronic administration of docosahexaenoic acid reduces the spatial cognitive deficit following transient forebrain ischemia in rats. *Neurosci.* **71**, 17-25.
 15. Reeves, P. G., F. H. Neilsen and G. C. Fahey. 1993. Committee report on the AIN-93 purified rodent diet. *J. Nutr.* **123**, 1939-1951.
 16. Stewart, C. A. and R. Morris. 1993. The water maze. pp. 107-122. *In Behavioral Neuroscience: A Practical Approach*, vol. 1, Sagal A. Editor, Oxford University Press, New York, NY.
 17. Suzuki, H., S. J. Park, M. Tamura and S. Ando. 1998. Effect of the long-term feeding of dietary lipids on the learning ability, fatty acid composition of brain stem phospholipids and synaptic membrane fluidity in adult mice: A comparison of sardine oil diet with palm oil diet. *Mech. Age Dev.* **101**, 119-128.
 18. Weisinger, H. S., A. J. Vingrys and A. J. Sinclair. 1996. Effect of dietary n-3 deficiency on the electroretinogram in the guinea pig. *Ann. Nutr. Meta.* **40**, 91-98.
 19. Willatts, P., J. S. Forsyth, M. K. DiModugno, S. Varma and M. Colvin. 1998. Influence of long-chain polyunsaturated fatty acids on infant cognitive function. *Lipids* **33**, 973-980.
 20. Yamamoto, N., M. Saitoh, A. Moriuchi, M. Nomura and H. Okuyama. 1987. Effect of dietary α -linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J. Lipid Res.* **28**, 144-151.