

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ФОРМИРОВАНИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ У КРЫС ЛИНИЙ ВИСТАР И WAG/RIJ С ГЕНОТИПОМ $A_1/A_1$ ПО ЛОКУСУ TAQ 1A ДОФАМИНОВОГО РЕЦЕПТОРА ВТОРОГО ТИПА (DRD2)

**Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.**

*Башкирский государственный университет, Уфа, e-mail: mpha@ufanet.ru*

Изложенные в статье результаты свидетельствуют о тождестве динамики формирования алкогольной зависимости у неэпилептической линии крыс (Вистар) и крыс с абсансной эпилепсией (WAG/Rij).

**Ключевые слова:** локус Таq 1A дофаминового рецептора второго типа DRD2, алкогольная зависимость, эпилепсия, крысы линии WAG/Rij, Вистар

## COMPARATIVE ANALYSIS OF THE DYNAMICS OF FORMATION OF ALCOHOL DEPENDENCE IN THE WISTAR AND WAG / RIJ RAT LINES WITH THE $A_1/A_1$ GENOTYPE AT LOCUS TAQ 1A DOPAMINE SECOND TYPE GENE (DRD2)

**Akhmadeev A.V., Kalimullina L.B.**

*The Bashkir state university, Ufa, e-mail: mpha@ufanet.ru*

The presented results indicate the identity of the dynamics of formation of alcohol dependence in non-epileptic lines of rats (Wistar) and rats with absence epilepsy (WAG/Rij).

**Keywords:** locus Taq 1A gene receptor of dopamine second type, alcohol dependence, epilepsy, WAG/Rij rats, Wistar rats

Центральным звеном патогенетических механизмов двух тяжелых психоневрологических заболеваний – эпилепсии и наркомании – является нарушение деятельности дофаминергической системы мозга. Это обосновывает необходимость рассмотрения взаимосвязи этих двух заболеваний и постановку двух вопросов – приводит ли употребление психоактивных веществ и зависимость от них к формированию судорожных припадков и предрасполагает ли эпилепсия к аддиктивным расстройствам? Ответ на первый вопрос очевиден, т.к. описана «алкогольная эпилепсия», проявляющаяся, чаще всего, в период абстиненции, т.е. на фоне нарушений процессов дофаминергической трансмиссии [7, 8, 10, 11]. Второй вопрос – предрасполагает ли эпилепсия к употреблению психоактивных веществ – не имеет пока прямого ответа, но имеющиеся в литературе единичные сведения предполагают, что распространенность алкоголизма среди больных эпилепсией несколько выше, чем в остальной популяции [8].

Показано, что у крыс GAERS (модель абсансной эпилепсии) повышена чувствительность к введению амфетамина [9], а также снижена плотность рецепторов переносчика дофамина в хвостатом ядре и коре прилежащего ядра и DRD2 рецепторов в хвостатом ядре. Аналогичные результаты получены и по крысам WAG/Rij [12], которые также используются как модель абсансной эпилепсии.

Известно из результатов работы Zhang и соавторов [13], что минорные аллели (Т) двух фланкирующих 6 экзон интронных локусов (rs 2283265 и rs 1076560) гена рецептора дофамина второго типа, снижающие экспрессию короткой изоформы (DRD2S), находятся в неравновесию по сцеплению с минорным аллелем ( $T = A_1$ ,  $D' = 0,855$ ) локуса Таq 1A. Вследствие этого у крыс линии WAG/Rij происходит изменение дофаминергической трансмиссии и характера пик-волновой активности, характеризующей эту форму эпилепсии [5]. С другой стороны, многочисленными исследованиями показано, что генотип  $A_1/A_1$  по локусу Таq 1A DRD2 является маркером предрасположенности к развитию аддиктивных расстройств, а развившаяся зависимость от психоактивных веществ у носителей этого генотипа имеет тяжелое клиническое течение [1].

Все вышеуказанное послужило основанием для проведения нами экспериментального исследования, целью которого является сравнительный анализ динамики формирования алкогольной зависимости у крыс линий Вистар и WAG/Rij с генотипом  $A_1/A_1$  по локусу Таq 1A DRD2.

Исследования проведены на двух группах крыс инбредной линии Вистар и WAG/Rij, имеющих генотип  $A_1/A_1$  по локусу Таq 1A DRD<sub>2</sub>. Эти линии крыс получены на кафедре морфологии и физиологии человека и животных Башкирского государ-

ственного университета путем скрещивания гомозиготных крыс, выявленных в исходной популяции генетическим анализом двуаллельного локуса Taq 1A DRD2, проведенного под руководством профессора, доктора биологических наук Э.К. Хуснутдиной. Детали генетического анализа отражены в ранее опубликованной работе [2].

Всех использованных в работе половозрелых крыс массой 250–300 г. (всего 20 самцов, по десять в каждой группе в возрасте шести месяцев) содержали в стандартных условиях вивария, характеризующихся постоянством комнатной температуры (20–22 °С) и уровнем влажности. Еду и питье животные получали *ad libitum*. До начала эксперимента с принудительной наркотизацией для выявления характеристик питьевого режима и ориентировочно-исследовательской деятельности регистрировали среднесуточное потребление воды на протяжении одной недели, а также изучали их поведение в тесте «открытое поле».

«Открытое поле» представляло собой квадратную освещенную арену, разделенную на 16 равных частей. Крысу в начале тестирования в открытом поле помещали в один из периферических квадратов и наблюдали за ее поведением в течение пяти минут. На протяжении сеанса тестирования определяли время, затрачиваемое крысой на груминг (чесательный рефлекс), пребывание в состоянии неподвижности, а также регистрировали латентный период до пересечения первого квадрата (амбуляции). Также подсчитывали число пересеченных квадратов поля в центре и на его периферии, сумма которых характеризовала общую двигательную (горизонтальную) активность крысы. Исследовательскую деятельность крыс определяли подсчетом количества вертикальных стоек, которые крысы совершали в центре и на периферии поля. Сумма совершаемых крысой стоек на периферии и в центре поля характеризовала общую исследовательскую деятельность. Вегетативные реакции крыс регистрировали на основании учета числа уриаций и болюсов.

В эксперименте с принудительной алкоголизацией крысы в качестве единственного источника жидкости получали *ad libitum* в течение первой недели 6% водный раствор этилового спирта и 8% водный раствор этилового спирта – в течение второй недели. При определении концентраций этанола и сроков проведения принудительной алкоголизации мы опирались на данные

работы авторов [6], которые показали, что 6% водный раствор этанола, потребляемый крысами в течение двух недель, приводит к изменениям в обмене дофамина и серотонина в амигдале и префронтальной коре мозга. С 15-х по 21-е сутки (третья неделя) животным предоставляли выбор между раствором этилового спирта (8% раствор) и чистой водой (двухпоилковый метод формирования психической зависимости, [3]). Регистрировали потребление воды и водного раствора этанола в течение суток на протяжении пяти дней, а также поведение крыс в открытом поле. Достоверность различий, выявленных между изучаемыми показателями у животных двух экспериментальных групп, оценивали по критерию Стьюдента с помощью программы «Statistica 5.5».

Изучение поведения крыс в тесте «открытое поле» до начала принудительной алкоголизации показало, что существуют различия по общей двигательной активности, она выше у крыс линии WAG/Rij ( $p < 0,05$ , табл. 1). Однако, в поведении обеих групп крыс имели место сходные черты, а именно: крысы той и другой группы двигались, в основном, по периферии поля, часто замирая и редко выходя в его центр; совершали единичные вертикальные стойки, также преимущественно по периферии поля. Слабо был выражен груминг, как по общей продолжительности, так и по числу эпизодов.

Регистрация среднесуточного объема потребления воды крысами изучаемых групп до начала принудительной алкоголизации позволила выявить присущие им особенности питьевого режима. Оказалось, что воду пьют больше крысы линии Вистар, но различия не являются значимыми (табл. 2).

Показатели среднесуточного потребления 6 и 8% спирта (средние по группам крыс) свидетельствуют о том, что у крыс линии Вистар объем потребления 8% спирта больше по сравнению с 6% спиртом ( $13,00 \pm 0,84$  и  $9,82 \pm 0,60$ ,  $p < 0,001$ ), что указывает на прогрессивное нарастание потребления этанола в течение двух недель алкоголизации. У крыс линии WAG/Rij нарастание объема потребления 6% спирта и 8% спирта носит принципиально такой же характер. 8% спирта крысы потребляют значимо больше, чем 6% спирта ( $t = 2,75$ ,  $p < 0,05$ ). Наличие единой закономерности в темпах увеличения потребления спирта говорит о том, что у обеих групп крыс имеет место влечение к его употреблению. Сравнительный анализ темпов увеличения потребления спирта показывает, что 6 и 8%

спирт крысы линии Вистар пьют в больших количествах ( $6\% - 9,82 \pm 0,60$  мл по сравнению с  $6,56 \pm 0,69$ ,  $p < 0,01$  и  $8\% - 13,00 \pm 0,84$  и  $9,20 \pm 0,84$ ,  $p < 0,05$ ). Однако, учитывая тот факт, что крысы линии WAG/Rij потребляют изначально меньшие

объемы жидкости (это выяснено при регистрации объемов воды, потребляемых изучаемыми группами крыс до начала эксперимента), вряд ли это может быть расценено как показатель большего влечения к спирту у крыс линии Вистар.

Таблица 1

Показатели поведения крыс линии Вистар и WAG/Rij с генотипом  $A_1A_1$  в открытом поле до и после алкоголизации

Эксперимент	Вистар				WAG/Rij			
	Неподвижность	Общая двигательная активность	Общая исследовательская деятельность	Эпизоды груминга	Неподвижность	Общая двигательная активность	Общая исследовательская деятельность	Эпизоды груминга
До	$1,47 \pm 0,15$	$11,76 \pm 0,89$	$4,80 \pm 0,67$	$0,82 \pm 0,05$	$1,00 \pm 0,07$	$15,26 \pm 1,44$	$5,90 \pm 0,54$	$0,95 \pm 0,06$
После	$1,36 \pm 0,44$	$13,50 \pm 0,99$	$6,40 \pm 0,58$	$0,92 \pm 0,06$	$0,65 \pm 0,04$	$18,31 \pm 1,56$	$7,50 \pm 0,67$	$1,11 \pm 0,59$
p	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$

Таблица 2

Среднесуточное потребление крысами линии Вистар и WAG/Rij воды, 6 и 8% этилового спирта в процессе принудительной алкоголизации и показатели предпочтения спирта в тесте двух поилок ( $M \pm m$ ) в мл.

Группы крыс	Вистар		WAG/Rij	
Вода	$6,74 \pm 1,31$		$4,65 \pm 0,43$	
6% спирт	$9,82 \pm 0,60$		$6,56 \pm 0,69^{**}$	
8% спирт	$13,00 \pm 0,84$		$9,20 \pm 0,84^*$	
Две поилки	8% спирт	вода	8% спирт	вода
	$12,30 \pm 1,09$	$3,42 \pm 0,75^{***}$	$10,84 \pm 0,97$	$2,36 \pm 0,28^{***}$

С установкой двух поилок (вода и 8% спирт) на третьей неделе эксперимента средние значения по группам крыс показывают, что крысы обеих групп предпочитают пить спирт, при этом объемы потребления спирта и воды различаются при высоком уровне значимости (табл. 2). С переходом на две поилки потребление спирта у крыс линии Вистар уменьшается, а у крыс линии WAG/Rij несколько увеличивается, но выявленные изменения количества потребляемого спирта не являются статистически значимыми. Обнаруженный факт свидетельствует о том, что у крыс обеих групп имеет место влечение к алкоголю, выработанное в течение двух недель принудительной алкоголизации.

Анализ индивидуальных характеристик потребления спирта и воды крысами выявил определенные особенности, а именно: 20% крыс Вистар в первый же день установки двух поилок предпочитают пить больше воды. На второй день от общего объема потребляемой жидкости (спирт + вода) на долю спирта приходится 23% и воды 77%. На третий день это соотношение составля-

ет 34% спирта и 66% воды, на четвертый – 47% спирта и 53% воды и на пятый – 52% спирта и 48% воды. Эти данные показывают, что часть крыс Вистар, прошедших принудительную алкоголизацию, получив возможность выбора между водой и спиртом, предпочитают пить воду. Но в течение последующих четырех дней, постепенно меняя соотношение потребляемого спирта и воды, эти крысы на пятый день вновь начинают предпочитать спирт. Иная картина имеет место у крыс линии WAG/Rij. У них после установки двух поилок 40% крыс сразу переходят на воду, предпочтение воды сохраняется на второй и третий день (80% воды и 20% спирта). Но на четвертый день происходит скачкообразное изменение соотношения – 80% спирта и 20% потребляемой воды. Вероятно, это говорит о наличии особенностей в формировании толерантности к алкоголю у этой группы крыс.

Регистрация поведения крыс в открытом поле после алкоголизации (табл. 1) показывает, что оно меняется у обеих групп крыс. Это проявляется в увеличении общей двигательной активности и усилении

исследовательской деятельности, а также в увеличении числа эпизодов груминга. Повышение горизонтальной активности, свидетельствующее о преобладании возбуждения над торможением, по-видимому, можно объяснить более выраженными у этой группы крыс сдвигами в обмене дофамина. Известно, что острая алкоголизация вызывает более сильное ускорение обмена дофамина в мозге животных, предпочитающих этанол, при этом предполагается, что эти животные (отдающие предпочтение алкоголю) имеют генетически детерминированные изменения дофаминергической системы [4]. Увеличение числа стоек, совершаемых крысами не только по периферии поля, но и при участвовавших выходах в его центр на фоне алкоголизации, несомненно, является отражением уменьшения эмоционального напряжения и тревожности. Формирование этого состояния после приема алкоголя связывают с повышением концентрации катехоламинов в нервной ткани, выступающих как фактор внутреннего вознаграждения [4]. Обнаруженные сдвиги в поведении, отражающие изменения функционального состояния нервной системы, могут быть интерпретированы как показатель развития психической зависимости.

Итак, результаты проведенного экспериментального изучения показывают, что

у крыс линии WAG/Rij (модель абсанной эпилепсии) и Вистар (неэпилептическая линия) формирующаяся алкогольная зависимость развивается сходным образом. Но необходимы дальнейшие исследования механизмов формирования толерантности.

#### Список литературы

1. Анохина И.П., Москаленко В.Д. Руководство по наркологии / под ред. Н.Н. Иванец. – М., Медпрактика, 2002. – С. 140.
2. Ахмадеев А.В. Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т.96, № 5. – С. 513.
3. Борисова Е.В., Русаков Д.Ю., Судаков С.К. Бюллетень эксп. биол. и медицины. – 1992. – Т. 114, № 9. – С. 296.
4. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных заболеваний. – СПб.: Изд. дом СПб университета, 2004.
5. Калимуллина Л.Б., Мусина А.М., Кузнецова Г.Д. Российский физиол. журнал им. И.М.Сеченова. – 2012. – Т.98, № 2. – С. 117.
6. Carlson J.N. Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2006. – Vol. 30, №10. – P. 1678.
7. Chan A.W. Epilepsia. – 1985. – Vol. 26, №4. – P. 323.
8. Hillbom M., Pieninkeroinen I., Leone M. CNS Drugs. – 2003. – Vol. 17, №14. – P. 1013.
9. Jones N.C., Martin S., Megatia I. et al. // Neurobiol Dis. – 2010. – Vol. 39, №1. – P. 116.
10. Marchal C. Rev Prak. – 1999. – V. 49, №4. – P. 383.
11. Martinove M. Neuropsychopharmacol Hung. – 2010. – Vol. 12, №1. – P. 295.
12. Midzyanovskaya, I. Absence and mixed forms of epilepsy in WAG. Rij rats: characteristics and brain aminergic modulations // Nijmegen: Nijmegen University Press. – 2006.
13. Zhang Y., Bertolino A., Fazio L. et al. Proc Natl Acad Sci U S A. – 2007. – Vol. 104, №51. – P. 20052.