

УДК 611.813.14.018: 599.323.4

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ
К АЛКОГОЛИЗМУ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ
РЕАКЦИЙ И СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ АМИНОВ
У ПРЕДПОЧИТАЮЩИХ И НЕ ПРЕДПОЧИТАЮЩИХ АЛКОГОЛЬ КРЫС**

Ахмадеев А.В., Калимуллина Л.Б.

ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», Уфа, e-mail: mpha@ufanet.ru

Предпочитающие алкоголь крысы при исследовании поведения в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» показали значимо большую двигательную активность и признаки повышенной тревожности. Содержание дофамина и норадреналина в миндалевидном комплексе мозга предпочитающих алкоголь крыс значимо выше, у них также ускорен метаболизм дофамина по сравнению с не предпочитающими алкоголь крысами.

Ключевые слова: предрасположенность к наркомании, моноаминергическая система, миндалевидный комплекс мозга, поведенческие предикторы наркомании, валидные экспериментальные модели

**STUDY OF FACTORS PREDISPOSITION TO ALCOHOLISM:
A COMPARATIVE ANALYSIS OF BEHAVIORS AND BIOGENIC AMINES
IN THE ALCOHOL-PREFERRING RATS AND NON- PREFERRING RATS**

Akhmadeev A.V., Kalimullina L.B.

Bashkirian State University, Ufa, e-mail: mpha@ufanet.ru

Alcohol-preferring rats in study of the behavior of tests «open field» and «elevated plus maze» showed significantly greater locomotor activity and signs of increased anxiety. Dopamine and norepinephrine in the brain amygdala alcohol-preferring rats were significantly higher, they also accelerate the metabolism of dopamine compared to non-alcohol preferring rats.

Keywords: predisposition to addiction, monoaminergic system, amygdala of the brain, behavioral predictors of drug abuse, valid animal model

В России ситуация в отношении потребления психоактивных веществ (ПАВ, термин, предложенный ВОЗ: «психоактивные вещества» – включает в себя такие понятия, как алкоголь и наркотики) ухудшается. Масштабы этой проблемы многократно возрастают, если учесть, что среди факторов, сопровождающих аддиктивное поведение, наиболее выраженная связь прослеживается с антисоциальным поведением [5]. Вышеизложенное свидетельствует о том, что проблема алкогольной зависимости является одной из самых актуальных проблем общества.

К сожалению, до сих пор нет эффективных лечебных мероприятий, которые позволили бы освободить больного человека от зависимости. Это указывает на то, что основное внимание необходимо уделять профилактике, своевременно выявляя с помощью диагностических методов, группы риска. Целенаправленная работа именно с этим контингентом способна обеспечить наибольшую эффективность предупредительных мероприятий.

Профилактика аддиктивных расстройств должна осуществляться комплексом мер, учитывающих социальные, психологические и биологические факторы

возникновения заболевания. К настоящему времени уже установлены основные биологические механизмы развития болезней зависимости от ПАВ. Они указывают на ведущую роль катехоламиновой системы в ее патогенезе [1, 6]. Показано, что повышение уровня катехоламинов связано с актуализацией патологического влечения к ПАВ и предопределено на 50% генетическими факторами.

Разработка эффективных превентивных мер возможна на основании знаний особенностей нейромедиаторного обмена, лежащих в основе предрасположенности к употреблению ПАВ, генетических факторов, и поведенческих паттернов, указывающих на риск возникновения наркомании.

Согласно имеющимся в литературе данным, наибольшее значение в механизмах развития зависимости от ПАВ имеет дофаминовый рецептор второго типа (DRD2). Одним из интенсивно изучаемых локусов DRD2 является локус Taq 1A. Показано, что аллельная структура этого локуса играет роль в развитии алкоголизма, кокаиновой, героиновой зависимости [9, 10] и асоциального поведения [2].

Первое экспериментальное подтверждение роли полиморфизма локуса Taq 1A

DRD2 в развитии наркозависимости получено нами [3]. Работа была выполнена на молекулярно-генетических моделях – крысах, имеющих различия в аллельной структуре указанного локуса, которые выявлены после генетического анализа и к моменту эксперимента прошли 20 поколений. Крысы с генотипом A_1/A_1 по локусу Taq 1A DRD2, показавшие ускоренные темпы формирования толерантности и психической зависимости по сравнению с крысами с генотипом A_2/A_2 в эксперименте с принудительной алкоголизацией, являются валидной моделью для исследования факторов, определяющих предрасположенность к ПАВ.

Целью работы являлся сравнительный анализ двигательной активности и исследовательского поведения предпочитающих (ПА) и не предпочитающих (НА) алкоголь крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт, ПКЛ», а также сопоставление полученных результатов с содержанием норадреналина, дофамина (ДФ) и его метаболита 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и серотонина и его метаболита 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в центре афферентного синтеза – миндалевидном комплексе мозга (МК).

Материал и методы исследования

Указанные группы (ПА – семь особей, НА – 10) были получены из исходной популяции крыс линии WAG/Rij после генотипирования локуса Taq 1A DRD2, скрещивания гомозиготных животных и выявления в последующем предпочтения алкоголя в тесте двух поилок [4]. Проведенный ранее анализ межлинейных различий в формировании алкогольной зависимости (с использованием крыс линии Вистар и WAG/Rij с генотипом A1A1 DRD2) показал, что она формируется сходным образом, но поведенческие реакции имеют более выраженный характер у крыс линии WAG/Rij. Это послужило основанием использования крыс линии WAG/Rij в наших дальнейших экспериментах.

Круглое открытое поле представляло собой арену 1,5 м в диаметре с высотой стенок 0,8 м, дно ко-

торой имело деления на сектора. В открытом поле выделяли 3 зоны: центральную, промежуточную (6 сегментов), и периферическую (12 сегментов). Освещение производилось 2 лампами, мощностью по 60 Вт, которые располагались на высоте 1,5 м от дна камеры над центральными сегментами поля. Крыс помещали в центр поля и оценивали двигательную активность и исследовательскую деятельность животного. Двигательную активность определяли путем подсчета числа пересеченных животным сегментов, исследовательскую деятельность – путем подсчета совершенных стоек.

ПКЛ, использованный в работе, представлял собой установку, имеющую два рукава, в месте пересечения которых находилась открытая площадка. Один из рукавов лабиринта имел закрытые отсеки. Лабиринт устанавливали на высоте одного метра от пола. Регистрация поведения в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ) проводилась по многим параметрам, но отражающими двигательную активность и исследовательскую деятельность среди них являются следующие: время нахождения крысы в светлом (СВ) и темном (ТМ) рукавах лабиринта, количество стоек в СВ и ТМ рукавах, латентный период (ЛП) до первого движения, общая неподвижность с СВ и ТМ рукавах ПКЛ, количество свешиваний в СВ, количество заходов в СВ и ТМ.

Содержание биогенных аминов и их метаболитов в МК определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе (Аквион, Россия) со спектрофотометрическим детектором (UVV-104 M). Область МК выделяли из нативного мозга с помощью способа [7] и гомогенизировали в 20 объемах холодной 0,1 M перхлорной кислоты (Sigma, USA) и 1 мг/50 мкл дигидроксибензиламина гидробромида (Sigma, USA) в качестве внутреннего стандарта. Гомогенизат центрифугировали (при -20°C) в течение десяти минут при 6000 оборотов в минуту. Супернатант подвергали микрофильтрации с помощью специальных наборов фирмы «Биохром» (Россия). После повторного центрифугирования пробы анализировали. Полученные результаты систематизировали и подвергали статистической обработке с помощью пакета программ «Statistica 5.5».

Результаты исследования и их обсуждение

Данные, характеризующие двигательную активность ПА и НА крыс, представлены в табл. 1. В ней приведены средние за пять дней тестирования.

Таблица 1

Количество секторов, пересеченных в различных зонах открытого поля крысами линии WAG/Rij (ПА и НА, $M \pm m$)

Центральная зона		Промежуточная зона		Периферическая зона		Общая двигательная активность	
ПА	НА	ПА	НА	ПА	НА	ПА	НА
9,75 ± 1,05	10,16 ± 0,93	45,57 ± 7,68	45,66 ± 7,23	163,77 ± 19,91	98,36 ± 5,86	219,09 ± 27,66	154,18 ± 8,76
T = 0,85, p = 0,42		T = 0,46, p = 0,65		T = 2,96, p = 0,02		T = 2,64, p = 0,038	

Приведенные в табл. 1 данные показывают, что общая двигательная активность крыс ПА значительно больше, чем у крыс НА.

Различия по числу амбуляций между крысами ПА и НА выявляются только в периферической зоне, в которой крысы ПА

пребывают и двигаются больше, чем в центральной и промежуточных зонах. Говорит ли это о повышенной тревожности у крыс ПА по сравнению с крысами НА? Для того, чтобы ответить на этот вопрос, необходимо проанализировать как выглядит соотношение посещения секторов разных зон арены (центральной зоны: промежуточной зоны: периферической зоны) крысами обеих групп. Процентное соотношение посещения секторов у ПА крыс составляет 4:21:75, у крыс НА 6:30:64. Приведенные данные показывают, что крысы ПА в 1,5 раза меньше выходят в центр поля, в 1,5 раза

меньше посещают сектора промежуточной зоны, и в 1,2 раза больше двигаются в периферической зоне. Эти данные позволяют предполагать у крыс ПА наличие большей тревожности.

Внешним проявлением изменений в поведении животного является снижение исследовательского поведения. Об этом можно судить по количеству вертикальных стоек, которые демонстрирует животное в открытом поле. Результаты регистрации количества стоек в различных зонах открытого поля приведены в табл. 2 (средние за пять дней тестирования).

Таблица 2

Количество стоек ($M \pm m$) в различных зонах открытого поля крысами предпочитающими (ПА) и не предпочитающими алкоголь (НА)

Центральная зона		Промежуточная зона		Периферическая зона		Общий показатель исследовательской деятельности	
ПА	НА	ПА	НА	ПА	НА	ПА	НА
2,77 ± 0,47	3,28 ± 0,61	5,57 ± 1,21	6,59 ± 1,38	38,63 ± 7,27	32,16 ± 5,80	45,17 ± 7,28	42,24 ± 7,60
1,28, $p = 0,24$		1,30, $p = 0,23$		0,25, $p = 0,80$		0,86, $p = 0,42$	

Как видно из табл. 2 по количеству стоек, совершаемых крысами ПА и НА в центре поля, в его промежуточной и в периферической зоне достоверных различий не выявляется.

Наряду с этим, существуют значимые различия по количеству стоек, совершаемых в его различных зонах внутри групп как ПА, так и НА. Сравнение количества стоек совершаемых в центре и в промежуточной зоне крысами ПА показывает, что критерий Стьюдента равен 3,66, $p = 0,01$; между центральной и периферической зоной 5,11, $p = 0,002$, между промежуточной и периферической зоной 5,05, $p = 0,002$. У крыс НА выявляется та же закономерность, различия между числом посещений центральной и промежуточной зоной, промежуточной и периферической – значимы при $p < 0,01$. Это говорит о том, что крысы обеих групп хорошо дифференцируют зоны открытого поля. В целом регистрация исследовательской деятельности крыс ПА и НА показывает, что крысы хорошо ориентируются в пространстве и по исследовательской деятельности не различаются между собой.

Предположение о большей тревожности крыс ПА, высказанной на основании результатов тестирования их поведения в открытом поле, мы решили проверить с использованием ПКЛ, который является наиболее признанным тестом при оценке уровня тревожности у грызунов. Регистра-

ция параметров (см. выше) выявила достоверные различия между крысами ПА и НА по количеству стоек в темном рукаве, которое у крыс ПА было равно $27,9 \pm 3,16$, а у крыс НА $18,3 \pm 1,54$ ($p < 0,05$). Это подтверждает предположение о большей тревожности крыс ПА, но требует дальнейших исследований.

Анализ содержания норадреналина в МК показал, что у крыс ПА оно достоверно выше ($p < 0,01$). Анализ содержания ДФ, ДОФУК в МК выявил, что при почти равных количествах содержания в ткани МК ДОФУК ($p > 0,05$), содержание ДФ значимо больше у крыс ПА ($p < 0,01$). Соотношение ДОФУК/ДФ вдвое больше ($0,39 \pm 0,03$ против $0,17 \pm 0,03$) у крыс ПА, что указывает на его ускоренный метаболизм. Величины, характеризующие содержание серотонина и 5-ОИУК у ПА и НА крыс статистически не различались. Эти результаты показывают, что у крыс НА содержание норадреналина и дофамина ниже, чем у крыс ПА. Кроме того, у крыс ПА ускорен метаболизм ДФ.

Заключение

Итак, сравнительный анализ поведения крыс ПА и НА выявил, что крысы ПА обладают большей двигательной активностью, предпочитая передвигаться по периферии открытого поля. Предполагая наличие у них большей тревожности, мы провели анализ поведенческих реакций крыс в ПКЛ. Эти результаты показали, что

крысы ПА значительно отличаются от крыс НА выраженностью исследовательской деятельности в темном рукаве лабиринта. Это является подтверждением предположения наличия у них тревожности, но для более обоснованного суждения об этом нужны дальнейшие исследования, которые мы планируем провести по выявлению различий реагирования этих двух групп крыс на стресс. Результаты анализа содержания серотонина, норадреналина, дофамина и его метаболитов в МК подтверждают имеющиеся в литературе данные, что повышение уровня катехоламинов связано с актуализацией патологического влечения к ПАВ [1,6].

Список литературы

1. Анохина И.П. Основные биологические механизмы алкогольной и наркотической зависимости: руководство по наркологии в двух томах; под ред. Н.Н. Иванец. – М.: Медпрактика, 2002. – С. 33–41.
2. Ассоциация полиморфных ДНК-локусов гена D2 рецептора дофамина и гена переносчика дофамина с агрессивным поведением / Д.А. Гайсина, Е.Б. Юрьев, Р.Б. Гумерова и др. // Медицинская генетика. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 145–148.
3. Ахмадеев А.В. Экспериментальные подходы к исследованию роли генотипа по локусу Tag1A дофаминового D2 рецептора в наркотической зависимости // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96, № 5. – С. 513–520.
4. Борисова Е.В., Русаков Д.Ю., Судаков С.К. Различия характеристик опиатных и катехоламиноэргических рецепторов стриатума и коры головного мозга крыс линий Fischer-344 b Wag/Gsto могут обуславливать различия в положительно-подкрепляющем действии морфина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1992. – Т. 114, № 9. – С. 296–298.
5. Гусев С.И. Заболеваемость наркоманиями в общей популяции населения и у осужденных в условиях пенитенциарных учреждений // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2010. – № 3. – С. 59–61.
6. Иванец Н.Н. Наркология – предмет и задачи: руководство по наркологии в двух томах; под ред. Н.Н. Иванец. – М.: Медпрактика, 2002, – С. 5–7.
7. Патент РФ № 1679246 от 28.04. 1994
8. Addiction-related alterations in D1 and D2 dopamine receptor behavioral responses following chronic cocaine self-administration / S. Edwards, K.N. Whisler, D.C. Fuller et al. // *Neuropsychopharmacology*. – 2007. – Vol. 32, № 2. – P. 354–66.
9. Munafo M.R., Matheson I.J., Flint J. Association of the DRD2 gene Tag1A polymorphism and alcoholism: a meta-analysis of case-control studies and evidence of publication bias // *Mol Psychiatry*. – 2007. – Vol. 12, № 5. – P. 454–461.
10. Noble E.P. The D2 dopamine receptor gene: a review of association studies in alcoholism and phenotypes // *Alcohol*. – 1998. – Vol. 16, № 1. – P. 33–45.