Дата публикации: 01.12.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_10
УДК 612.821; 612.821.44; 547.262

Publication date: 01.12.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_10
UDC 612.821; 612.821.44; 547.262

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ ГРЫЗУНОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ЭТАНОЛА НЕПОЛОВОЗРЕЛЫМ ЖИВОТНЫМ

М.А. Даниелян[1], С.И. Павленко[1,2], Д.С. Громова[1]

[1]Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара, Россия

[2]Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», г. Самара, Россия

Аннотация. В настоящее время сформировалась концепция комплексного изучения влияния этанола на организм. Согласно современным исследованиям этанол вызывает полифункциональные изменения в нервной системе, которые значимо влияют на эмоциональные, когнитивные, психомоторные функции. Цель данной работы состояла в изучении влияния алкогольной интоксикации на особенности поведенческих реакций неполовозрелых крыс в модельном эксперименте. В ходе исследования в тесте «Открытое поле» было отмечено достоверное снижение как горизонтальной, так и вертикальной двигательной активности, а также значимое снижение исследовательского поведения. Однако в тесте «Чёрно-белая камера» не выявлено статистически значимых изменений в психоэмоциональном статусе животных.

Ключевые слова: этанол, хроническое введение, алкоголизация, поведение, тест «Открытое поле», тест «Черно-белая камера».

FEATURES OF BEHAVIORAL RESPONSES OF RODENTS UNDER CONDITIONS OF CHRONIC ETHANOL ADMINISTRATION IN IMMATURE ANIMALS

M.A. Danielyan[1], S.I. Pavlenko[1, 2], D.S. Gromova[1]

[1]Samara State Medical University, Samara, Russia.

[2]Samara National Research University, Samara, Russia

Annotation. Currently, the concept of a comprehensive study of the effect of ethanol on the body has been formed. According to modern research, ethanol causes multifunctional changes in the nervous system, which significantly affect emotional, cognitive, and psychomotor functions. The purpose of this work was to study the effect of alcohol intoxication on the behavioral response features of immature rats in a model experiment. During the study in the Open field test, a significant decrease in both horizontal and vertical motor activity was noted, as well as a significant decrease in exploratory behavior. However, the Black and white test did not reveal statistically significant changes in the psychoemotional status of animals.

Keywords: ethanol, chronic administration, alcoholism, behavior, Open field test, Black and white test.

Введение. Несмотря на большое количество исследований когнитивных функций при алкогольной зависимости, всё ещё недостаточно изучен вопрос об их коррелятах в незрелом мозге. Нейроимаджинговые и нейрофизиологические исследования доказывают вклад лобных областей в реализацию поведенческого контроля, который значимо нарушается у лиц, страдающих алкоголизмом [1]. Учитывая, что префронтальная кора позже всех в онтогенезе достигает своей функциональной зрелости, можно предположить, что именно данная область головного мозга в первую очередь становится мишенью для воздействия этанола.

На сегодняшний день, анализируя научные данные и проводя анализ литературы,

можно отметить, что среди исследователей сформировалась концепция, согласно которой алкогольную болезнь мозга необходимо рассматривать как нейроиммунопатологический синдром [2-3]. Отмечаются выраженные нарушения всех видов метаболизма (жирового, белкового, углеводного), нейротрансмиттерных взаимодействий; патологии ферментативных и рецепторных аппаратов клеток с дальнейшим сдвигом регуляции. Кроме того, современные данные указывают, что алкоголь вызывает развитие нейровоспаления, при котором повышается продукция цитокинов и медиаторов воспаления, вырабатываемых глиальными клетками, что в свою очередь запускает дальнейшие процессы повреждения мозга [4-5].

В контексте того, что алкоголь оказывает многоплановые влияния на все процессы, протекающие в нервной системе, изучение механизмов его влияния на мозг подростков оказывается наиболее актуальным. В связи с этим модельные эксперименты такого рода занимают значимое место в биомедицинских исследованиях. Изучение механизмов действия этанола и его первичных эффектов на уровне нейробиологических процессов является важным звеном для понимания центральных механизмов патогенеза алкогольной зависимости, дальнейших адаптационных механизмов и разработки способов лечения людей с данной патологией [6-8].

Цель настоящей работы: изучить влияние алкогольной интоксикации на особенности поведенческих реакций неполовозрелых крыс.

Методы и организация исследования. Работа выполнена на 10 лабораторных неполовозрелых крысах-самцах средней массой 40-65 грамм. На первом этапе исследования осуществляли изучение поведенческих реакций животных с использованием классических методик «Открытое поле» и «Чёрно-белая камера». Полученные данные принимали за контрольные значения, которые в дальнейшем использовали как параметры сравнения.

На втором этапе эксперимента всем животным внутримышечно на протяжении 10 суток вводили 0,2 мл 70% раствора этанола. Далее грызунов вновь тестировали с использованием поведенческих методик.

Для статистического анализа полученных данных применяли тест Shapiro-Wilk, тест Wilcoxon Signed Rank Test. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. В качестве описательных статистик приведены медианы и 25-й и 75-й перцентили (Me; 25-75%), а также изменения значений в %.

На протяжении всего исследования животные содержались в стандартных условиях вивария, при неограниченном доступе к воде и пище. Все исследования выполнены в соответствии с Директивой Европейского Парламента и Совета ЕС 2010/63/EU от 22 сентября 2010 года; «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минздрава СССР № 755 от 12 августа 1977 г.), директив Европейской Конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и положениями комиссии по биоэтике биологического факультета Самарского университета (Протокол № 4 от 27.05.2022 г.).

Результаты исследования и их обсуждение. В ходе выполнения исследования в тесте «Открытое поле» у крыс, получавших этанол, наблюдалось снижение вертикальной двигательной активности на протяжении всех 10 суток. Так, уже через сутки после введения раствора этанола вертикальная двигательная активность уменьшилась у них с 42 (33-54%) до 11 (7-21,5%) ($p<0,001$). Однако наибольшее статистически значимое снижение количества вертикальных стоек на 72,77% и 80,71% отмечалось на 5 и 10 дни после введения этанола (рис. 1).

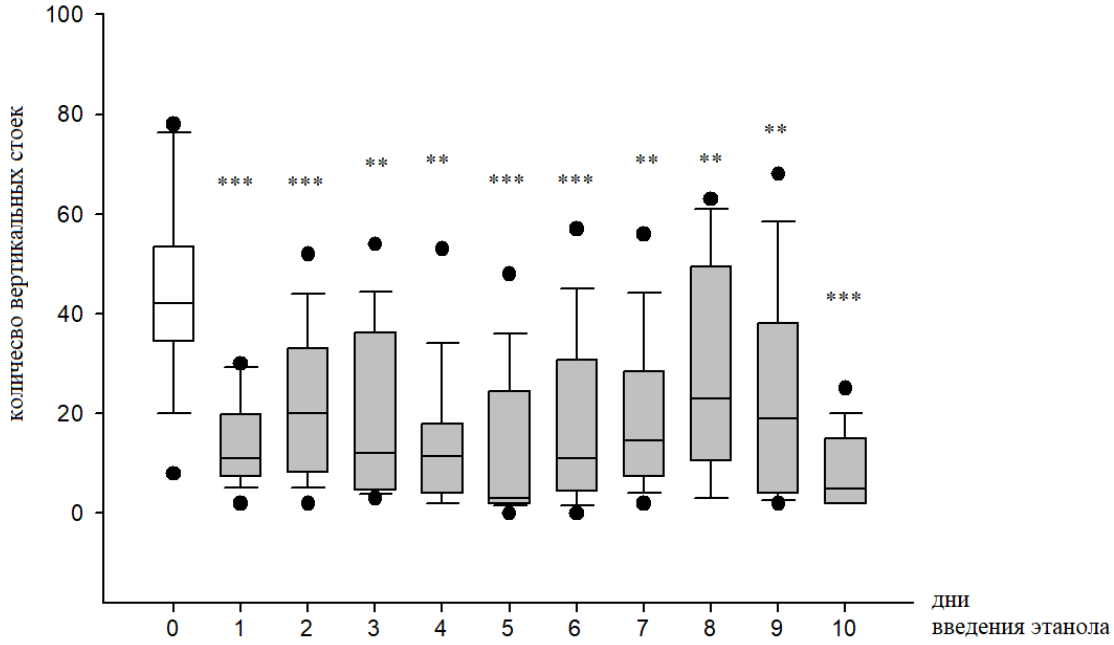


Рис. 1. Влияние раствора этанола на вертикальную двигательную активность (количество вертикальных стоек) крыс

Примечание: ** – ($p<0,01$), *** – ($p<0,001$) – статистически значимые различия по сравнению с контрольными значениями

Подобная динамика наблюдалась и в отношении горизонтальной двигательной активности. Количество пересечённых квадратов резко снизилось уже в первые сутки после введения препарата с 4 (1,5-9,5%) до 0 (0-1,5%)($p<0,001$). Далее показатели количества пересечённых квадратов носили волнообразный характер, при этом продолжая снижаться. Однако к концу десятых суток уровень горизонтальной двигательной активности снизился на 95,42% ($p<0,001$). Для большинства животных было характерно полное отсутствие горизонтальной двигательной активности. Животные замирали в одном квадрате поля, поведенческий паттерн характеризовался стратегией затаивания (рис. 2).

Вероятно, настолько значимое изменение всех компонентов двигательной активности животных связано с изменениями нейрохимического обмена, активности различных медиаторных систем и плотностью рецепторов. Так, известно, что при хронической алкогольной интоксикации различные нейромедиаторы могут оказывать как синергичные, так и антагонистичные эффекты на нейроны головного мозга. Установлено, что в хвостатом ядре, которое играет существенную роль в контроле за движениями, у крыс при хронической алкогольной интоксикации отмечаются нарушения в дофаминергической передаче, которые тесно связаны с работой глутаматергической системы. Этот феномен имеет особое значение в связи с тем, что, выступая в качестве одного из основных возбуждающих медиаторов в мозге, глутамат обладает и нейротоксическим действием [9]. При избыточной продукции глутамата и повышении активности глутаматергической передачи возникает избыточный вход ионов кальция в нервные клетки, что способствует образованию в них свободных радикалов (таких, как активные формы кислорода) и повышает активность протеинкиназ.

В результате всех этих биохимических каскадов происходят глутаматиндуцированное повреждение и гибель нервных клеток [10], которая сопровождается атрофией в базальных ядрах [11] и, вероятно, объясняет наблюдаемый эффект.

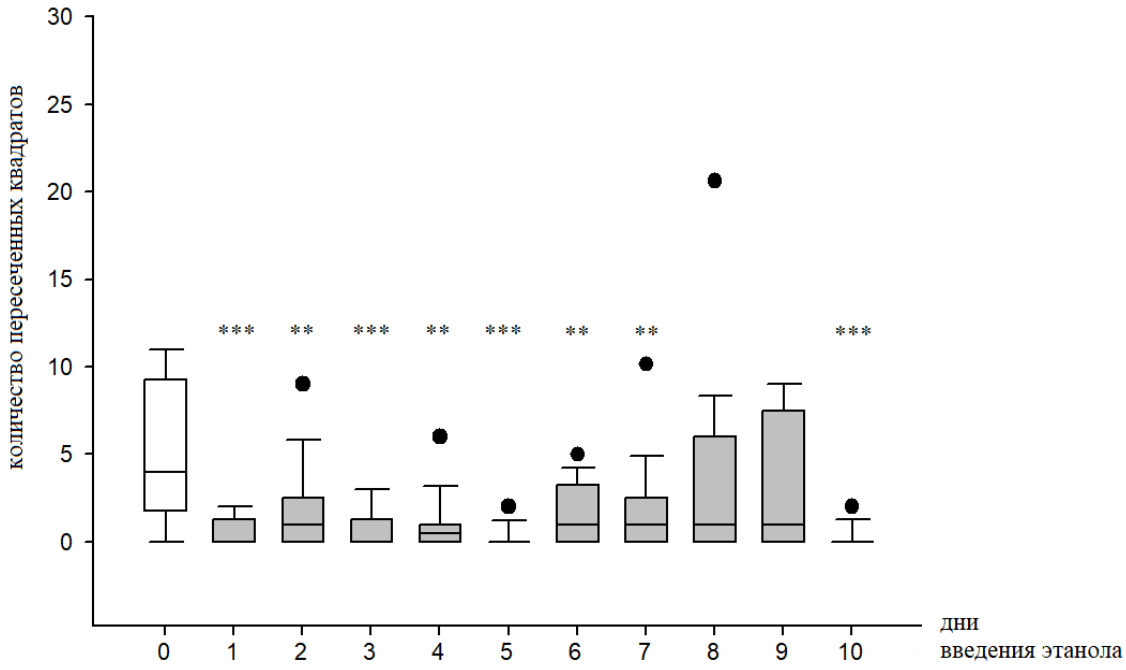


Рис. 2. Влияние раствора этанола на горизонтальную двигательную активность (количество пересечения квадратов) крыс

Примечание: ** – ($p<0,01$), *** – ($p<0,001$) – статистически значимые различия по сравнению с контрольными значениями

Исследовательская активность при хроническом введении этанола полностью отсутствовала к концу проведения экспериментов (снижение от 13 (5,5-16 %) до 0 (0-0%); $p<0,001$). В частности, на 10-е сутки исследования ни одно животное из группы не заглядывало в центральные отверстия поля, что в том числе согласуется с отсутствием перемещения по экспериментальной площадке. До введения препарата в поведении животных преобладала мотивация исследования новой территории, что, вероятно, связано с нормальным функционированием дофаминергической системы. Из литературных источников известно, что длительное введение этанола приводит к подавлению функциональной активности нейронов мезокортиколимбической системы, что проявляется изменением как морфологии нервных клеток (уменьшением числа дендритных отростков нейронов, изменение отросткового аппарата макроглии), так и компонентов поведенческого акта, которые указывают на дефицитарность в работе дофаминергической системы. Регистрируемые изменения в поведении крыс, подвергавшихся хронической алкоголизации, связаны с резким снижением уровня дофамина в прилежащем ядре и замедлением его оборота [12-14].

Отмечено также значительное влияние этанола на пресинаптические дофаминовые ауторецепторы D2, которые по принципу обратной связи регулируют высвобождение дофамина из нервного окончания путём снижения своей экспрессии [6].

Наблюдаемое снижение исследовательской и двигательной активности в поведении животных подтверждает развитие выраженного общего поведенческого дефицита, среди возможных причин которого следует отметить также влияние этанола на уровень нейропептида Y[15] и ингибирующее действие этанола на глутаматные NMDA-рецепторы [16]. Нейрофизиологический механизм данных эффектов связан с действием этанола и его метаболитов на монаминергические рецепторы и

эндогенную опиоидную систему. Результатом данных воздействий может быть изменение биосинтеза и секреции норадреналина и дофамина в структурах мезокортиколимби+ческой системы (прилежащее ядро, вентральная область покрышки, амигдала, медиальная префронтальная кора) [10, 17, 18].

Изучение поведения животных в тесте «Чёрно-белая камера» не выявило каких-либо статистически значимых изменений. Время нахождения животных как в светлом, так и в тёмном отсеке тестовой площадки носило волнообразный характер и не имело каких-либо статистически значимых изменений.

Заключение. Принимая во внимание полученные данные, можно сделать вывод, что этанол изменяет поведенческие реакции крыс, снижая двигательную активность, а также блокируя ориентировочно-исследовательские рефлексы. Как уже отмечалось, на уровне нервной ткани этанол избирательно воздействует на функцию норадренергической, ГАМК-ергической, холинергической и пептидергической нейронных систем [15].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пешковская, А. Г. Когнитивный контроль при алкогольной зависимости и его нейрокорреляты / А. Г. Пешковская, С. А. Галкин // Вопросы наркологии. – 2018. – № 12. – С. 65-80.
2. Review and gap analysis: molecular pathways leading to fetal alcohol spectrum disorders / Ehrhart F., Roozen S., Verbeek J. [et al] // Mol Psychiatry. – 2019. – Vol. 24. – № 1. – P. 10-17.
3. Роль Toll-подобных рецепторов в нейроиммунологии алкоголизма / Айрапетов М. И., Ереско С. О., Лебедев А. А. [и др.] // Биомедицинская химия. – 2020. – № 3. – С. 208-215.
4. Прокопьева, В. Д. Оценка периферических маркеров окислительного стресса у больных алкоголизмом / В. Д. Прокопьева, Т. П. Ветлугина, Е. Г. Ярыгина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2018. –№ 9. – С. 69-73.
5. Багметова, В. В. Динамика потребления и формирования предпочтения алкоголя у самцов и самок крыс, подвергшихся хронической интоксиации 5%-м и 10%-м растворами этанола / В. В. Багметова, Н. С. Ганзикова, И. В. Малюженко // Вестник ВолГМУ. – 2019. – № 2. – С. 17-22.
6. Роль дофамина и норадреналина в алкогользависимом поведении: от корреляций к механизмам / Гриневич В. П., Немец В. В., Крупицкий Е. М. [и др.] // Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. – 2022. – № 3. – С. 13-29.
7. Translational opportunities in animal and human models to study alcohol use disorder / Nieto S. J., Grodin E. N., Aguirre C. G. [et al] // Transl Psychiatry. – 2021. – № 1. – P. 496.
8. Оценка общей двигательной активности и тревожности зебраданио (*Daniorerio*) с использованием тестов незнакомого аквариума, открытого поля, черно-белого аквариума и построения косяка / Галстян Д. С., Колесникова Т. О., Косицын Ю. М. [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2022. – № 2. – С. 123-133.
9. Azevedo, C. A. Neuromodulation Therapies for Alcohol Addiction: A Literature Review / C. A. Azevedo, A. Mammis // Neuromodulation. – 2018. – № 2. – P. 144-148.
10. Leurquin-Sterk, G. Cerebral dopaminergic and glutamatergic transmission relate to different subjective responses of acute alcohol intake: an in vivo multimodal imaging study / G. Leurquin-Sterk // Addict Biol. – 2018. – № 3. – P. 931-944.
11. Гуров, Д. Ю. Морфологические изменения нейронов хвостатого ядра крыс, склонных к формированию алкогольной зависимости / Д. Ю. Гуров, В. П. Туманов, А. В. Смирнов // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2019. – № 2. – С. 7-11.
12. Фролова, Г. А. Оценка корректирующего влияния сульпирида на поведенческие нарушения алкоголизированных самцов белых крыс с разным уровнем депрессивности / Г. А. Фролова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2019. – № 2. – С. 19-28.
13. Ethanol-Dependent Synthesis of Salsolinol in the Posterior Ventral Tegmental Area as Key Mechanism of Ethanol's Action on Mesolimbic Dopamine / Bassareo V., Frau R., Maccioni R. [et al.] // Front Neurosci. – 2021. – № 15. – P. 675061.

14. The Mesolimbic Dopamine Activity Signatures of Relapse to Alcohol-Seeking / Liu Y., Jean-Richard-Dit-Bressel P., Yau J. O. [et al] // J Neurosci. – 2020. – № 33. – P. 6409-6427.
15. Фармакологический анализ действия антагониста нейропептида Y BMS 193885 на эмоциональное, внутривидовое поведение и подкрепляющие свойства этанола у крыс / Москалев А. Р., Абросимов М. Е., Ветлугин Э. А. [и др.] // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2020. – № 2. – С. 131-138.
16. Потупчик, Т. В. Фармакотерапевтические аспекты применения ноотропов у лиц с алкогольной зависимостью / Т. В. Потупчик, О. Ф. Веселова, И. В. Гацких // Медицинский алфавит. – 2019. – № 19. – С. 37-41.
17. Opposite consequences of tonic and phasic increases in accumbal dopamine on alcohol-seeking behavior / Budygin E. A., Bass C. E., Grinevich V. P. [et al] // IScience. – 2020. – № 3. – P. 100877.
18. Exploring the consequences of social defeat stress and intermittent ethanol drinking on dopamine dynamics in the rat nucleus accumbens / A. L. Deal, J. K. Konstantopoulos, J. L. Weiner, E. A. Budygin // Scientific reports. – 2018. – № 1. – P. 1-9.

REFERENCES

1. Peshkovskaya A.G., Galkin S.A. Cognitive control in alcohol dependence and its neural correlates. *Journal of Addiction Problems,* 2018, no. 12, pp. 65-80 (in Russ.)
2. Ehrhart F., Roozen S., Verbeek J., Koek G., Kok G., van Kranen H., Evelo C.T., Curfs L.M.G. Review and gap analysis: molecular pathways leading to fetal alcohol spectrum disorders. *Mol Psychiatry,* 2019, vol. 24, no. 1, pp. 10-17.
3. Ajrapetov M.I., Eresko S.O., Lebedev A.A., Bychkov E.R., Shabanov P.D. The role of Toll-like receptors in the neuroimmunology of alcoholism. *Biomedical chemistry,* 2020, no. 3, pp. 208-215. (in Russ.)
4. Prokop'eva V.D., Vetlugina T.P., Yarygina E.G. Evaluation of peripheral oxidative stress markers in alcoholic patients. *International Journal of Applied and Fundamental Research,* 2018, no. 9, pp. 69-73. (in Russ.)
5. Bagmetova V.V., Ganzikova N.S., Malyuzhenko I.V. Dynamics of consumption and formation of the preference of alcohol in rat males and females exposed to chronic intoxication of 5 and 10 % ethanol solutions. *Vestnik of Volgograd State Medical University*, 2019, no. 2, pp. 17-22. (in Russ.)
6. Grinevich V.P., Nemets V.V., Krupitskij E.M., Gajnetdinov, P.P., Budygin E. A. Dopamine and norepinephrine role in alcohol-addictive behavior: from correlations to mechanisms. *V.M. Bekhterev review of psychiatry and medical psychology*, 2022, no. 3, pp. 13-29. (in Russ.)
7. Nieto S.J., Grodin E.N., Aguirre C.G., Izquierdo A., Ray L.A. Translational opportunities in animal and human models to study alcohol use disorder. *Transl Psychiatry,* 2021, no. 1, p. 496.
8. Galstyan D.S., Kolesnikova T.O., Kositsyn Y.M., Zabegalov K.N., Gubaidullina M.A., Maslov G.O., Demin K.A., Kalueff A.V. Assessment of general locomotor activity and anxiety in zebrafish (Danio rerio) in the light-dark box (tank), the shoaling test, in the novel tank and the open field tests. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*, 2022, no. 2, pp. 123-133. (in Russ.)
9. Azevedo C.A., Mammis A. Neuromodulation Therapies for Alcohol Addiction: A Literature Review. *Neuromodulation*, 2018, no. 2, pp. 144-148.
10. Leurquin-Sterk G. Cerebral dopaminergic and glutamatergic transmission relate to different subjective responses of acute alcohol intake: an in vivo multimodal imaging study. *Addict Biol*, 2018, no. 3, pp. 931-944.
11. Gurov D.Yu., Tumanov V.P., Smirnov A.V. Morphological changes in neurons of caudate nucleus of rats predisposed to alcohol dependence. *Volgograd Journal of Medical Research*, 2019, no. 2, pp. 7-11. (in Russ.)
12. Frolova G.A. The sulpiride correction of behavioral disorders in alcoholized white male rats with different degrees of depression. *Pathological physiology and experimental therapy,* 2019, no. 2, pp. 19-28. (in Russ.)
13. Bassareo V., Frau R., Maccioni R., Caboni P., Manis C., Peana A.T., Migheli R., Porru S., Acquas E. Ethanol-Dependent Synthesis of Salsolinol in the Posterior Ventral Tegmental Area as Key Mechanism of Ethanol's Action on Mesolimbic Dopamine. *Front Neurosci*, 2021, no. 15, p. 675061.
14. Liu Y., Jean-Richard-Dit-Bressel P., Yau J.O., Willing A.. Prasad A.A., Power J.M., Killcross S., Clifford CWG, McNally G.P. The Mesolimbic Dopamine Activity Signatures of Relapse to Alcohol-Seeking. *J Neurosci*, 2020, no. 33, pp. 6409-6427.
15. Moskalev A.R., Abrosimov M.E., Vetlugin E.A., Pshenichnaya A.G., Tissen I.Yu., Ivankov A.S., Bychkov E.R., Lebedev A.A., Shabanov P.D.

Pharmacological analysis of the effects of the neuropeptide y antagonist bms 193885 on the emotional, intraspecies behavior and reinforcing properties of ethanol in rats. *Reviews on clinical pharmacology and drug therapy*, 2020, no. 2, pp. 131-138. (in Russ.)
16. Potupchik T.V., Veselova O.F., Gatskikh I.V. Pharmacotherapeutic aspects of nootropics use in people with alcohol dependence. *Medical alphabet*, 2019, no. 19, pp. 37-41. (in Russ.)
17. Budygin, E.A. Bass C.E., Grinevich V.P., Deal A.L. Bonin K.D., Weiner J.L. Opposite consequences of tonic and phasic increases in accumbal dopamine on alcohol-seeking behavior. *IScience*, 2020, no. 3, p. 100877.
18. Deal A.L., Konstantopoulos J.K., Weiner J.L., Budygin E.A. Exploring the consequences of social defeat stress and intermittent ethanol drinking on dopamine dynamics in the rat nucleus accumbens. *Scientific reports*, 2018, no. 1, pp. 1-9.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:
Милана Артуровна Даниелян – студент института клинической медицины, ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, e-mail: milana-danielyan@bk.ru.
Снежанна Ивановна Павленко – кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России; доцент кафедры физиологии человека и животных ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королёва», Самара, e-mail: pavlenko.snezhanna@mail.ru.
Дарья Сергеевна Громова – старший преподаватель кафедры общей и молекулярной биологии; старший преподаватель кафедры физиологии с курсом безопасности жизнедеятельности и медицины катастроф ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Milana Arturovna Danielyan – Student of the Institute of Clinical Medicine, Samara State Medical University, Samara, e-mail: milana-danielyan@bk.ru.
Snezhanna Ivanovna Pavlenko – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Physiology with the course of Life Safety and Disaster Medicine, Samara State Medical University; Associate Professor, Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University, Samara, e-mail: pavlenko.snezhanna@mail.ru.
Daria Sergeevna Gromova – Senior Lecturer of the Department of General and Molecular Biology; Senior Lecturer of the Departmentof Physiology with the course of Life Safety and Disaster Medicine, Samara State Medical University, Samara, e-mail: d.s.gromova@samsmu.ru.

Для цитирования: Даниелян, М. А. Особенности поведенческих реакций грызунов в условиях хронического введения этанола неполовозрелым животным / М. А. Даниелян, С. И. Павленко, Д. С. Громова // Современные вопросы биомедицины. – 2023. – Т. 7. – № 4. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_10

For citation: Danielyan M.A., Pavlenko S.I., Gromova D.S. Features of behavioral responses of rodents under conditions of chronic ethanol administration in immature animals. *Modern Issues of Biomedicine*, 2023, vol. 7, no. 4. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_04_10