

УДК 616.092

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2024.2.2 EDN: APTLLO

ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА ПОСЛЕ ЕГО ФОРСИРОВАННОГО ВВЕДЕНИЯ КРЫСАМ© Шабанов П.Д.^{1,2}, Лихтман Я.Б.¹, Лебедев А.А.¹¹Институт экспериментальной медицины, Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6*Резюме*

Цель. Изучение поведенческих реакций крыс в период введения этанола в повышающихся дозах и после отмены введения этанола.

Методы. Используются поведенческие методы исследования крыс: самостимуляцию латерального гипоталамуса, открытое поле, приподнятый крестообразный лабиринт, «резидент-чужак», тест Порсолта. Этанол вводили в повышающихся дозах 0,5-1-2-4 г/кг в течение 4 дней с оценкой поведения через 24 ч. и 72 ч. после введения последней дозы этанола.

Результаты. Форсированное введение этанола в течение 4 дней в возрастающих дозах (0,5-1,0-2,0-4,0 г/кг) и его последующая отмена изменяет поведение животных. Этанол умеренно повышает активность подкрепляющих систем головного мозга, особенно в дозе 2 г/кг. В «открытом поле» выявлены признаки постинтоксикационного воздействия этанола, которые регистрируются через 24-72 ч. после его последнего введения. Отмена этанола сопровождается снижением двигательных показателей поведения (преимущественно через 24 ч.) при повышенных показателях груминга и эмоциональности (через 24 ч. и 72 ч.). В приподнятом крестообразном лабиринте отмена этанола оказывает разнонаправленное влияние на тревожность, несколько снижая ее через 24 ч. и резко повышая через 72 ч. после последнего введения этанола, что указывает на сохранение признаков постинтоксикационного синдрома. В тесте «резидент-чужак» отмена этанола растормаживает систему агрессия/защита и снижает общительность животных, причем эти признаки регистрируются как через 24 ч., так и через 72 ч. после последнего введения этанола. Наконец, в тесте Порсолта в период отмены этанола только через 24 ч. умеренно повышается время иммобилизации, что указывает на возрастание депрессивности животных.

Заключение. Это позволяет квалифицировать метод форсированного введения этанола в возрастающих дозах с последующей его отменой как удобный способ оценки поведенческих элементов зависимости от этанола и других психотропных веществ.

Ключевые слова: этанол, градуальное введение, форсированная алкоголизация, мозговое подкрепление, синдром отмены, поведение, крысы

BEHAVIORAL CORRELATES OF ETHANOL WITHDRAWAL AFTER FORCED ADMINISTRATION IN RATSShabanov P.D.^{1,2}, Likhtman Ya.B.¹, Lebedev A.A.¹¹Institute of Experimental Medicine, 12, St. Academician Pavlov, 197022, St. Petersburg, Russia²S.M. Kirov Military Medical Academy, 6, St. Academician Lebedev, 194044, St. Petersburg, Russia*Abstract*

Objective. To study the behavioral reactions of rats during the period of ethanol administration in increasing doses and after discontinuation of ethanol administration.

Methods. Behavioral methods for studying rats were used: self-stimulation of the lateral hypothalamus, open field, elevated plus maze, “resident-stranger”, Porsolt test. Ethanol was administered in increasing doses of 0.5-1-2-4 g/kg for 4 days with behavioral assessment after 24 hours and 72 hours after administration of the last dose of ethanol.

Results. Forced administration of ethanol for 4 days in increasing doses (0.5-1.0-2.0-4.0 g/kg) and its subsequent withdrawal changes the behavior of animals. Ethanol moderately increases the activity of the brain's rewarding systems, especially at a dose of 2 g/kg. In the “open field”, signs of post-intoxication effects of ethanol were revealed, which were recorded 24-72 hours after its last administration. Ethanol

withdrawal is accompanied by a decrease in motor behavior indicators (mainly after 24 hours) with increased indicators of grooming and emotionality (after 24 hours and 72 hours). In the elevated plus maze, ethanol withdrawal has a multidirectional effect on anxiety, slightly reducing it after 24 hours and sharply increasing 72 hours after the last administration of ethanol, which indicates the persistence of signs of post-intoxication syndrome. In the "resident-intruder" test, the withdrawal of ethanol disinhibits the aggression/defense system and reduces the sociability of animals, and these signs are recorded both 24 hours and 72 hours after the last administration of ethanol. Finally, in the Porsolt test, during the period of ethanol withdrawal, only after 24 hours, the time of immobilization moderately increases, which indicates an increase in the depressiveness of the animals.

Conclusion. This allows us to qualify the method of forced administration of ethanol in increasing doses followed by its withdrawal as a convenient way to assess the behavioral elements of dependence on ethanol and other psychotropic substances.

Keywords: ethanol, gradual introduction, forced alcoholization, brain reinforcement, withdrawal syndrome, behavior, rats

Введение

С целью моделирования алкогольной зависимости используют разные методы алкоголизации. Наиболее распространены насильственные и полунасильственные методы алкоголизации грызунов (крыс). Насильственная алкоголизация воспроизводится путем внутрибрюшинного или внутрижелудочного введения этанола (обычно 15-20%) в течение определенного времени (1-2 мес). Она гарантирует ежедневное получение определенной дозы этанола, поскольку процесс введения контролируется экспериментатором. Например, при массе животного 250 г введение 2 мл 20% этанола (внутрь или внутрибрюшинно) соответствует около 1,6 г/кг массы/сут этанола, или 48 г/мес. Максимально в желудок крысы можно вводить до 5 мл, тогда доза этанола увеличится до 4 г/кг/сут, или 120 г/мес. По прошествии периода алкоголизации считается, что у животного формируется эквивалент зависимости, например, психической (алкоголизация в течение 1 мес.) или физической (алкоголизации более 2 мес.). Проверяют формирование зависимости в тесте свободного выбора между 10-15%-ным этанолом и водой. Данные суточного потребления этанола и воды существенно различаются: потребление 10%-ного этанола, как правило, существенно возрастает, 15%-ного этанола увеличивается менее значимо. Однако нужно отметить, что в природных условиях крыса не пьет жидкости, а получает ее из продуктов питания (например, овощей или фруктов). Объем выпитой жидкости в экспериментальных условиях составляет порядка 20-25 мл/сут на крысу. Если пересчитать потребление 10%-ного и 15%-ного раствора этанола на массу потребляемого этанола в сутки, эти значения будут мало отличаться, хотя объемы потребляемого 10%-ного и 15%-ного этанола будут явно отличаться [5].

К форсированным формам алкоголизации относят введение этанола в повышенных (субмаксимальных) либо в возрастающих дозах до его максимальной переносимости [8]. Эти формы моделирования зависимости распространяются и на другие наркогены, например, опиаты, барбитураты, психостимуляторы [6, 7]. Описаны и иные методы ускоренной, или форсированной алкоголизации, например, с помощью ингаляции паров этанола в высоких концентрациях в закрытых гермокамерах [5]. Последний способ весьма эффективный, но достаточно трудоемкий и требует специального оборудования и датчиков концентраций исследуемого вещества.

Каждый из способов моделирования зависимости предполагает воспроизведение у животных набора элементов зависимости, присущих человеку. В экспериментальных условиях зависимость, как правило, оценивают по признакам формирования синдрома отмены. Чаще всего используют поведенческие нарушения, регистрируемые в период отмены вещества (повышенную или сниженную двигательную активность, проявления агрессии, анксиогению), реже – неврологические (судороги, повышение чувствительности к свету, звуку) или вегетативные (сердцебиение, колебания артериального давления) дисфункции [2]. Ранее нами [6-8] предложен относительно простой способ формирования элементов поведенческой зависимости, основанный на введении в возрастающих дозах веществ до уровня субмаксимальных доз. Оценка подкрепляющих свойств препаратов при данном способе введения строится на регистрации реакции самостимуляции мозга, жестко детерминированной реакции, повышающейся при введении большинства средств с высоким наркотическим потенциалом [4, 7]. Кроме того, показано, что такой способ введения веществ приводит к изменению содержания ряда биологически активных субстанций в структурах головного мозга, что косвенно также отражает формирование элементов зависимости от исследуемого вещества.

Целью работы было изучение поведенческих реакций крыс в период введения этанола в повышающихся дозах и после отмены введения этанола.

Методика

Опыты выполнены на 77 крысах самцах Вистар массой 200-220 г, содержащихся в группе по 7 особей в стандартных пластмассовых клетках в условиях вивария ФГБНУ «ИЭМ» и инвертированного света 8.00-20.00. Температура воздуха поддерживалась в пределах 20-22°C, относительная влажность – 50-70%. Для животных обеспечивали свободный доступ к воде и пище. Все опыты проводили в осенне-зимний период.

Все животные были разделены на несколько групп по 10-12 крыс в каждой. Крысы первых двух групп в течение 4 дней подряд внутрибрюшинно получали в возрастающих дозах 0,9%-ный раствор хлорида натрия (физиологический раствор) 0,1-0,2-0,4-0,8 мл/крысу (группа контроля) либо 20%-ный этанол 0,5-1,0-2,0-4,0 г/кг (опытная группа). Форсированный режим введения этанола предусматривал увеличение его дозы вдвое в каждый последующий день введения (всего 4 введения). Такой способ введения обеспечивает постепенную градуальную нагрузку организма этанолом и препятствует развитию толерантности. С целью оценки и контроля формирования алкогольной зависимости у крыс изучали динамику реакции самостимуляции латерального гипоталамуса (ССЛГ). Под нембуталовым наркозом (50 мг/кг) в мозг крысам вживляли электроды с использованием стереотаксического прибора фирмы «Medicor», Венгрия. Использовали нихромовые монополярные электроды в стеклянной изоляции (диаметр электрода 0,25 мм, длина оголенного кончика 0,25-0,30 мм, его толщина 0,12 мм), которые имплантировали билатерально в латеральное гипоталамическое ядро по следующим координатам: AP=2,5 мм назад от брегмы, SD=2,0 мм латерально от сагиттального шва, H=8,4 мм от поверхности черепа [10]. Индифферентный электрод из нихромовой проволоки закрепляли на черепе животного. Все электроды выводили и коммутировали на микроразъеме, который фиксировали на черепе самотвердеющей пластмассой.

Поведенческие эксперименты начинали не ранее 10 дней после операции. По окончании всех опытов производили морфологический контроль локализации кончиков электродов на серии фронтальных срезов мозга, которые окрашивали по методу Ниссля, предварительно производили коагуляцию через вживленные электроды током силой 1 мА в течение 30 секунд.

Использовали классический вариант ССЛГ в виде педальной самостимуляции в камере Скиннера. Через 10 дней после вживления электродов в мозг крыс обучали нажимать на педаль в камере Скиннера для получения электрического раздражения мозга (прямоугольные импульсы отрицательной полярности, длительностью 1 мс, с частотой 100 Гц, в течение 0,4 с, пороговые значения тока в режиме «фиксированных пачек»). Для повторного раздражения животное было вынуждено вновь нажимать на педаль. Частоту и длительность нажатий регистрировали автоматически. Анализировали частоту и время каждого нажатия на педаль. На основании этих результатов вычисляли «коэффициент рассогласования» [1, 4], который принимает значения от -1 до +1 и показывает долю активации положительной и отрицательной подкрепляющей фазы ССЛГ. К опыту приступали после стабилизации реакции ССЛГ при использовании фиксированного значения силы тока. Регистрировали число нажатий на педаль в течение 10 мин эксперимента и «коэффициент рассогласования».

Поведение крыс в «открытом поле» исследовали в установке, представляющей круглую площадку диаметром 80 см, ограниченную по окружности непрозрачными бортами высотой 30 см, с равномерно расположенными по полю 16 отверстиями (норками), диаметром 3 см каждая по всей площади открытого поля, предназначенными для выявления видоспецифического компонента исследовательской активности у грызунов (норковый рефлекс). Освещенность открытого поля равнялась 100 лк. В течение 3 мин регистрировали ряд элементарных двигательных актов и поз, совокупность которых характеризует целостное поведение в «открытом поле» [3].

Поведение крыс в приподнятом лабиринте исследовали в установке, представлявшей крестообразный приподнятый лабиринт, который состоял из двух открытых рукавов 50×10 см и двух закрытых рукавов 50×10 см с открытым верхом, расположенных перпендикулярно относительно друг друга. Высота над полом 1 м. Животное помещали в центр лабиринта. Путем нажатия соответствующей клавиши этографа, связанного с компьютером, фиксировали время пребывания в закрытых и открытых рукавах, время свешивания в открытых рукавах и выглядывания из закрытых рукавов. Продолжительность теста составляла 5 мин. [3].

Исследование агрессии/защиты в тесте «резидент-чужак». Смысл методики состоит в том, что к крупному самцу, постоянно находящемуся в клетке (резиденту) подсаживают более мелкое животное (чужака). Регистрировали число поведенческих проявлений агрессивности и защиты, а также общее число поведенческих актов, описывающих взаимоотношение двух особей крыс в процессе 5-минутного совместного пребывания «резидента» и «чужака».

Исследование антидепрессантной активности проводили в плавательного тесте «отчаяния» Порсолта [11], когда крысу на 6 мин. помещали в стеклянный цилиндр диаметром 20 см и высотой 40 см, на 1/3 заполненный водой, с температурой $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Регистрировали время активного и пассивного плавания и время иммобилизации.

Статистическую обработку количественных данных проводили, используя программное обеспечение Graph Pad Prizm v.6. Все данные были представлены как среднее \pm стандартное отклонение. Статистическую значимость различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Для сравнения только между двумя группами применялся t-критерий Стьюдента для независимых выборок.

Результаты исследования

Исследование влияния градуального форсированного введения этанола на самораздражение латерального гипоталамуса крыс. Для достижения поставленной цели в части оценки активации подкрепляющих систем головного мозга изучали показатели ССЛГ крыс после внутрибрюшинного введения разных доз этанола (0,5-1,0-2,0-4,0 г/кг). Показателями такой активации является увеличение числа нажатий на педаль и уменьшение «коэффициента рассогласования», отражающего чувствительность мозговой ткани к электрическому раздражению [12]. Данные представлены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние этанола на показатели ССЛГ у крыс после форсированного 4-дневного введения этанола

Вещества	Число нажатий на педаль за 10 мин.		Коэффициент «рассогласования»	
	До введения (%)	После введения (%)	До введения	После введения
1-й день				
0,9% раствор NaCl (контроль)	147 \pm 16 (100 \pm 11)	161 \pm 12 (110 \pm 8)	0,21 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01
Этанол 0,5 г/кг	155 \pm 21 (100 \pm 14)	166 \pm 17 (107 \pm 11)	0,33 \pm 0,11	0,21 \pm 0,07#
2-й день				
0,9% раствор NaCl (контроль)	152 \pm 12 (100 \pm 8)	143 \pm 23 (94 \pm 15)	0,34 \pm 0,03	0,26 \pm 0,05
Этанол 1 г/кг	134 \pm 13 (100 \pm 10)	147 \pm 20 (110 \pm 15)	0,21 \pm 0,02	0,14 \pm 0,05*#
3-й день				
0,9% раствор NaCl (контроль)	161 \pm 11 (100 \pm 7)	144 \pm 24 (89 \pm 15)	0,14 \pm 0,03	0,18 \pm 0,06
Этанол 2 г/кг	156 \pm 14 (100 \pm 9)	191 \pm 16*# (122 \pm 10)	0,25 \pm 0,05	0,31 \pm 0,12
4-й день				
0,9% раствор NaCl (контроль)	142 \pm 22 (100 \pm 15)	156 \pm 17 (110 \pm 12)	0,13 \pm 0,04	0,18 \pm 0,03
Этанол 4 г/кг	147 \pm 16 (100 \pm 11)	161 \pm 12 (110 \pm 8)	0,21 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01

Примечание. * $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля; # $p < 0,05$ в сравнении с показателями до введения этанола

Видно, что этанол в исследованных дозах в целом оказывал умеренное активирующее влияние на ССЛГ. Достоверное увеличение числа нажатий на педаль (+22%) регистрировали только при использовании этанола 2 г/кг. Однако чувствительность мозговой ткани, оцененная по уменьшению «коэффициента рассогласования», рассчитанного по пороговым значениям тока, вызывающего реакции ССЛГ, возрастала после введения этанола в дозах 0,5 и 1 г/кг, «коэффициент рассогласования» при этом в первом случае снижался с 0,33 \pm 0,11 до 0,21 \pm 0,07 ($p < 0,05$), во втором случае с 0,21 \pm 0,02 до 0,14 \pm 0,05 ($p < 0,05$). При введении этанола 4 г/кг (субтоксическая доза) не отмечали достоверных изменений ни в числе нажатий на педаль, ни при анализе «коэффициента рассогласования». Следовательно, активацию мозговых систем подкрепления этанолом регистрировали при его введении в дозах 0,5-1-2 г/кг, но не 4 г/кг.

Исследование влияния градуального форсированного введения этанола на двигательное, исследовательское и эмоциональное поведение крыс. Тестирование животных после градуального введения этанола в возрастающих дозах в течение 4 дней подряд (форсированного введения) осуществляли через 24 ч. и 72 ч. после последнего его введения. В «открытом поле» через 24 ч. этанол значимо снижал двигательную и исследовательскую (заглядывание в норки) активность, но повышал число грумингов и болюсов дефекации, что указывает на повышенную эмоциональность животных. Через 72 ч. горизонтальная двигательная и исследовательская активность нормализовалась, груминги, наоборот, уменьшались при сохранении повышенной эмоциональности, о чем указывает увеличенное число болюсов дефекации (табл. 2).

Таблица 2. Влияние форсированного введения этанола на поведение крыс в «открытом поле»

Препараты	Число пересеченных квадратов	Стойки	Заглядывание в норки	Груминг	Число болюсов дефекаций
Через 24 ч. после последнего введения					
0,9% раствор NaCl (контроль)	17,5±2,3	5,8±0,7	4,5±0,6	3,7±0,5	0,8±0,1
Этанол	12,3±1,6*	1,4±0,2**	1,6±0,2**	6,1±0,8*	3,1±0,4**
Через 72 ч. после последнего введения					
0,9% раствор NaCl (контроль)	19,6±2,5	6,7±0,9	2,3±0,3#	2,5±0,3#	0,5±0,1#
Этанол	22,1±2,9#	3,4±0,4*#	1,7±0,2	1,5±0,2###	2,5±0,3**

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по отношению к контролю; # $p < 0,05$; ### $p < 0,01$ по отношению к показателям при тестировании через 24 ч после последнего введения вещества

В приподнятом крестообразном лабиринте через 24 ч. после его последнего введения этанол увеличивал время нахождения крыс в открытых рукавах лабиринта, что указывает на снижение тревожности животных. Следует, однако, отметить, что показатели повторного тестирования через 72 ч. у контрольных крыс резко отличались от показателей 24 ч.: повторное тестирование приводило к 3-кратному увеличению времени нахождения в открытых рукавах лабиринта, то есть к типичному анксиолитическому эффекту. Показатели свешиваний с платформы и выглядываний из закрытых рукавов существенно не менялись (табл. 3). На фоне анксиолитического эффекта повторного тестирования крыс через 72 ч. после последнего введения этанола, напротив, в группе этанола наблюдали типичный анксиогенный эффект (уменьшение времени пребывания в открытых рукавах лабиринта) без значимых изменений двух других показателей поведения. Следовательно, отмена этанола оказывает разнонаправленное влияние на тревожность, несколько снижая ее через 24 ч. и резко повышая через 72 ч. после последнего введения этанола, что указывает на сохранение признаков постинтоксикационного синдрома.

Таблица 3. Влияние форсированного введения этанола на поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте

Препараты	Время в открытых рукавах, с	Число свешиваний с платформы	Число выглядываний из закрытых рукавов
Через 24 ч. после последнего введения			
0,9% раствор NaCl (контроль)	29,1±3,3	5,3±0,7	4,8±0,6
Этанол	40,6±5,8*	4,7±0,6	5,9±0,8
Через 72 ч. после последнего введения			
0,9% раствор NaCl (контроль)	94,6±12,1###	4,1±0,5	2,3±0,3#
Этанол	13,0±1,2***##	2,3±0,3#	2,1±0,3#

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ по отношению к контролю; # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; ### $p < 0,0001$ по отношению к показателям при тестировании через 24 ч после последнего введения вещества

Поведение в тесте «резидент-чужак» показало, что в группе крыс, получавших этанол, его отмена приводит к растормаживанию системы агрессии и защиты. Для крыс Вистар не характерно проявление агрессии вообще, поэтому в контрольной группе мы ее не регистрировали, но эти показатели повышались в группе этанола. При этом после отмены этанола также отмечено снижение коммуникативного и индивидуального поведения (табл. 4).

Следовательно, форсированная алкоголизация и отмена этанола растормаживает систему агрессия/защита и снижает общительность животных. Эти признаки регистрируются как через 24 ч., так и через 72 ч. после последнего введения этанола.

Таблица 4. Влияние форсированного введения этанола на поведение крыс в тесте «резидент-чужак»

Препараты	Индивидуальное поведение	Коммуникативное поведение	Проявление агрессии	Защитное поведение
Через 24 ч. после последнего введения				
0,9% раствор NaCl (контроль)	81,4±10,6	34,1±4,4	0,0±0,0	0,0±0,0
Этанол	65,5±8,5	21,8±2,8*	0,6±0,1*	0,9±0,1**
Через 72 ч. после последнего введения				
0,9% раствор NaCl (контроль)	112,2±14,6	49,7±6,5#	0,0±0,0	0,0±0,0
Этанол	81,9±10,6*	22,7±2,9**	0,7±0,1*	1,1±0,1**

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по отношению к контролю; # $p < 0,05$ по отношению к показателям при тестировании через 24 ч после последнего введения вещества

Оценка депрессивности/антидепрессивного эффекта в тесте Порсолта показала, что в период отмены этанола только через 24 ч умеренно повышается время иммобилизации, что указывает на возрастание депрессивности животных (табл. 5). Другие показатели достоверно не менялись. Данный тест следует оценить как малоинформативный в батарее поведенческих исследований рассматриваемого феномена.

Таблица 5. Влияние форсированного введения этанола на поведение крыс в тесте Порсолта

Препараты	Время активного плавания, с	Время пассивного плавания, с	Время иммобилизации, с
Через 24 ч. после последнего введения			
0,9% раствор NaCl (контроль)	16,9±2,2	339,3±44,1	3,8±0,5
Этанол	15,3±2,0	310,4±40,4	9,4±1,2*
Через 72 ч. после последнего введения			
0,9% раствор NaCl (контроль)	17,6±2,3	329,5±42,8	4,3±0,6
Этанол	17,4±2,3	311,5±40,5	5,4±0,7#

Примечание. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по отношению к контролю; # $p < 0,05$ по отношению к показателям при тестировании через 24 ч после последнего введения вещества.

Таким образом, форсированное введение этанола в течение 4 дней в возрастающих дозах (0,5-1,0-2,0-4,0 г/кг) и его последующая отмена изменяет поведение животных. Этанол умеренно повышает активность подкрепляющих систем головного мозга, особенно в дозе 2 г/кг. В «открытом поле» выявлены признаки постинтоксикационного воздействия этанола, которые регистрируются через 24-72 ч. после его последнего введения. Отмена этанола сопровождается снижением двигательных показателей поведения (преимущественно через 24 ч.) при повышенных показателях груминга и эмоциональности (через 24 и 72 ч.). В приподнятом крестообразном лабиринте отмена этанола оказывает разнонаправленное влияние на тревожность, несколько снижая ее через 24 ч. и резко повышая через 72 ч. после последнего введения этанола, что указывает на сохранение признаков постинтоксикационного синдрома. В тесте «резидент-чужак» отмена этанола растормаживает систему агрессия/защита и снижает общительность животных, причем эти признаки регистрируются как через 24, так и через 72 ч. после последнего введения этанола. Наконец, в тесте Порсолта в период отмены этанола только через 24 ч. умеренно повышается время иммобилизации, что указывает на возрастание депрессивности животных.

Обсуждение результатов исследования

Полученные данные показывают, что даже непродолжительное введение этанола в возрастающих дозах (0,5-1,0-2,0-4,0 г/кг) приводит к существенным изменениям поведения экспериментальных животных. Поскольку первоначальной задачей исследования было установить влияние этанола на систему мозгового подкрепления, мы ежедневно регистрировали реакцию ССЛГ, одну из наиболее предпочтительных реакций, на основании которых судят о вовлечении подкрепляющих систем мозга [6]. Реакция самостимуляции, как правило, повышается при введении разных наркогенов, но в большей степени на вещества психостимулирующего типа (кокаин, амфетамины и их аналоги, фенциклидин, МК-801) и менее значительно на опиаты и опиоиды [3, 4]. Нами было показано, что этанол в широком диапазоне доз (0,5-1-2 г/кг) обладает подкрепляющими свойствами, либо

умеренно повышая число нажатий на педаль в камере Скиннера, либо снижая положительные значения «коэффициента рассогласования». Этот расчетный показатель весьма удобен для количественной оценки подкрепляющих систем мозга, поскольку рассчитывается на основании пороговых значений тока, вызывающих поведенческие реакции животного, то есть оценивает чувствительность мозговой ткани к раздражению электрическим током. В наших опытах этанол только в дозе 2 г/кг прямо увеличивал число нажатий на педаль (+22%), основного и самого наглядного показателя ССЛГ, а в дозах 0,5 и 1 г/кг этанол уменьшал значения «коэффициента рассогласования». По-видимому, для этанола и других наркотиков гипнosedативной направленности (опиаты, бензодиазепины, барбитураты) данный показатель более информативен, поскольку они лишь умеренно повышают число нажатий на педаль [12]. Интересно отметить, что увеличение дозы этанола до 4 г/кг вообще не меняло показателей ССЛГ, возможно в этой дозе этанол вызывает уже (суб)токсические реакции. Эта часть исследований убедительно доказывает активацию подкрепляющих систем мозга на введение этанола в дозах 0,5-1-2 г/кг, которая нивелируется с возрастанием дозы этанола до 4 г/кг.

Полученные данные послужили отправной точкой в трактовке изменения поведенческих реакций в период отмены этанола. Первый и основной вопрос состоял в том, как оценивать эффекты этанола после его градуального форсированного введения, – только как постинтоксикационные или как симптомы отмены. В наших опытах через 24-72 ч. после последнего введения этанола в «открытом поле» отмечали снижение двигательных показателей поведения (преимущественно через 24 ч) при растормаживании показателей груминга и эмоциональности (через 24 и 72 ч.). То же самое можно сказать и о результатах, полученных в приподнятом крестообразном лабиринте: отмена этанола несколько снижала тревожность крыс через 24 ч. и резко повышала ее через 72 ч. после последнего введения этанола, что больше указывает на признаки абстиненции, чем сугубо постинтоксикационного синдрома. Аналогично этому в тесте «резидент-чужак» отмена этанола растормаживает систему агрессия/защита и снижает общительность животных, причем эти признаки регистрируются как через 24, так и через 72 ч. после последнего введения этанола. То же самое, в тесте Порсолта в период отмены этанола регистрировали повышенную депрессивность животных по возрастанию времени обездвиженности.

Следовательно, градуальное форсированное введение этанола в дозах 0,5-1-2-4 г/кг индуцирует элементы зависимости, оцениваемые как по повышению подкрепляющих систем головного мозга (ССЛГ), так и по формированию абстинентного синдрома, поведенческие элементы которого выявляются не только сразу после отмены этанола (через 24 ч.), но и сохраняются и даже усиливаются к 72 ч. после последнего введения этанола. К таким признакам следует отнести устойчивое снижение двигательной и исследовательской активности, разбалансировки системы агрессия/защита, повышение тревожности и депрессивности. Это позволяет квалифицировать данный метод форсированного введения этанола в возрастающих дозах с последующей его отменой как удобный способ оценки поведенческих элементов зависимости от этанола и других психотропных веществ.

Выводы

1. Использование форсированного режима алкоголизации введением этанола в возрастающих дозах 0,5-1-2-4 г/кг позволяет упростить условия экспериментов на крысах, стандартизовать шкалы количественной оценки поведенческих последствий, включая синдром отмены, резко снизить стоимость подобных исследований из-за сокращения их сроков.
2. Особенностью модели форсированной алкоголизации является быстрая и точная количественная оценка динамики становления зависимости и типичных поведенческих признаков синдрома отмены.

Литература

1. Григорьян Г.А. Исследование механизмов избегания при самостимуляции у крыс // Журнал высшей нервной деятельности. – 1976. – Т.26, №6. – С. 1180-1187 [Grigoryan G.A. *Zhurnal vysshey nervnoi deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. I.P. Pavlov Journal of higher nervous activity. – 1976. – V.26, N6. – P. 1180-1187 (in Russian)]
2. Константинопольский М.А., Колик Л.Г., Чернякова И.В. и др. Антинаркотические эффекты дипептида ГТС-201, миметика 2-й петли BDNF, у крыс, зависимых от морфина // Психофармакология и биологическая наркология. – 2023. – Т. 14, № 3. – С.185-191 [Konstantinopolsky M.A., Kolik L.G.,

- Chernyakova I.V. i dr. *Psychofarmakologiya I biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2023. – V.14, N3. – P.185-191. (in Russian)]
3. Лебедев А.А., Лукашкова В.В., Пшеничная А.Г. и др. Новый антагонист рецепторов грелина агрелакс участвует в контроле эмоционально-исследовательского поведения и уровня тревожности у крыс // Психофармакология и биологическая наркологи́я. – 2023. – Т.14. №1. – С. 71-79. [Lebedev A.A., Lukashkova V.V., Pshenichnaya A.G. i dr. *Psychofarmakologiya I biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. 2023. – V.14, N1. – P.71-79. (in Russian)]
 4. Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Сопоставление реакции самостимуляции и условного предпочтения места при введении фенамина у крыс // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 1992. – Т.42, №4. – С. 692-698 [Lebedev A.A., Shabanov P.D. *Zhurnal vysshey nervnoi deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. I.P. Pavlov Journal of higher nervous activity. – 1992. – V.42, N4. – P. 692-698 (in Russian)]
 5. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма. – СПб.: Лань, 1988. – 272 с. [Shabanov P.D., Kalishevich S.Yu. *Biologiya alkogolizma*. Biology of alcoholism. – St. Petersburg: Lan, 1988. – 272 p. (in Russian)]
 6. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Корнилов В.А. Динамика самостимуляция латерального гипоталамуса при введении психоактивных веществ в возрастающих дозах (форсированного введения веществ) // Наркология. – 2009. – №10. – С.20-24. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Kornilov V.A. *Narkologiya*. Narcology. – 2009. – V.10. – P. 20-24 (in Russian)]
 7. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Любимов А.В., Корнилов В.А. Динамика реакции самостимуляции мозга у крыс после форсированного введения психоактивных веществ // Психофармакология и биологическая наркологи́я. – 2009. – Т.9, №1. – С.2524-2529 [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Lyubimov A.V., Kornilov V.A. *Psychofarmakologiya I biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2009. – V.9, N1. – P. 2524-2529 (in Russian)]
 8. Шабанов П.Д., Лебедев А.А., Яклашкин А.В. и др. Градуальное форсированное введение психоактивных веществ как модель поведенческой аддикции // Экспериментальная и клиническая фармакология. Матер. междунар. конф. – Гродно, 2011. – С. 250-254. [Shabanov P.D., Lebedev A.A., Yaklashkin A.V. i dr. *Eksperimental'naya I klinicheskaya farmakologiya*. Experimental and clinical pharmacology. Mater. international conf. – Grodno, 2011. – P. 250-254. (in Russian)]
 9. Шабанов П.Д., Лихтман Я.Б., Лебедев А.А. Подкрепляющие системы мозга и количественная оценка их работы // Психофармакология и биологическая наркологи́я. – 2024. – Т.15, №2. – С. 131-139 [Shabanov P.D., Likhtman Ya.B., Lebedev A.A. *Psychofarmakologiya I biologicheskaya narkologiya*. Psychopharmacology and biological narcology. – 2024. – V.15, N2. – P. 131-139. (in Russian)]
 10. König J.F.R., Klippel R.A. The rat brain: a stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. – Baltimore: Williams and Wilkins, 1963. – 162 p.
 11. Roik R.O., Lebedev A.A., Shabanov P.D. The value of extended amygdala structures in emotive effects of narcogenic with diverse chemical structure. *Research Results in Pharmacology*. – 2019. – V.5, N3. – P. 11-19.
 12. Sizov V.V., Lebedev A.A., Pyurveev S.S. et al. A method for training rats to electrical self-stimulation in response to raising the head using a telemetry apparatus to record extracellular dopamine levels // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2024. – V.54, N1. – P. 52-60.

Информация об авторах

Шабанов Петр Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России, профессор кафедры фармакологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. E-mail: pdshabanov@mail.ru

Лихтман Ян Борисович – аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России. E-mail: yanlikhtman@mail.ru

Лебедев Андрей Андреевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией общей фармакологии отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» Минобрнауки России. E-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 17.04.2024

Принята к печати 30.05.2024