

Вплив тривалого вживання етанолу *ad libitum* на емоційну поведінку щурів з різним рівнем алкогольної мотивації

В.В. Гейко

ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології імені П.В. Волошина НАМН України», Харків;
e-mail: vvgeiko@gmail.com

*Експериментальні дослідження розладів поведінки внаслідок вживання алкоголю не втрачають актуальності на тлі постійного психогенного впливу, пов'язаного із загарбницькою війною в Україні. Вважається, що емоційна поведінка може узагальнювати і відображати особливості психоемоційних порушень, які є найбільш поширеними психічними захворюваннями у світі. За умов вживання етанолу *ad libitum* досліджували характер емоційного реагування нелінійних білих щурів молодого репродуктивного віку у незвичних стресових ситуаціях «піднесеного хрестоподібного лабіринту», «темної-світлої камери» та «фіксації за хвіст». Метою роботи було вивчення впливу тривалого вживання етанолу на рівень тривожності та розвиток депресивноподібної поведінки тварин залежно від вираженості алкогольної мотивації за індексом надання переваги етанолу у двопляшковому тесті та середньодобової дози його вживання. За умов 30-денного вільного доступу до етанолу ці показники становили $62,18 \pm 2,13\%$ і $1,97 \pm 0,38$ г/кг у 71% щурів та $21,85 \pm 3,37\%$ і $2,81 \pm 0,26$ г/кг у решти, що відображало особливості алкогольної мотивації. Проте при аналізі емоційної поведінки не виявлено вірогідних відмінностей вихідних показників та їхніх змін внаслідок вживання алкоголю як взагалі, так і залежно від рівня алкогольної мотивації. Зроблено висновок про відсутність істотного значення емоційно-складової поведінки у забезпеченні схильності до формування набутого потягу у щурів молодого репродуктивного віку.*

*Ключові слова: нелінійні щури молодого репродуктивного віку; вживання алкоголю *ad libitum*; індекс надання переваги; алкогольна мотивація; нейроетологічні дослідження; тривожно-фобічний стан; депресивноподібна поведінка.*

ВСТУП

Висока актуальність удосконалення та створення нових адекватних реалістичних моделей для поглибленого вивчення патогенезу наркологічних захворювань спонукає до комплексного оцінювання функціонування організму під впливом речовин з адиктивним потенціалом, особливо – з використанням нелінійних тварин. У цьому аспекті емоційна поведінка являє собою чинник, що узагальнює та супроводжує механізми психоемоційних розладів внаслідок зловживання алкоголем, котрі вважаються найпоширенішими психічними захворюваннями у світі та пов'язані з багатьма коморбідними

соматичними (патологія внутрішніх органів, серцево-судинна система) і психіатричними (тривога, депресія) порушеннями.

Через генетичний відбір та селекційне розведення були створені лінії щурів з високим та низьким рівнями надання переваги алкоголю [1–5], що сприяло встановленню конкретних генетичних чинників, які впливають на його добровільне споживання. Наразі широко вивчена мультифакторіальна природа патологічного потягу до алкоголю [6–15], до того ж показано ключове значення генетичної складової, котра зумовлює 50–60% схильності до його формування, що не виключає важливості значного внеску екзогенних чинників зовнішнього середовища з урахуванням статі,

віку, типу вищої нервової діяльності, харчування, ізолюваного чи групового утримання тварин тощо. Втім відзначається глобальна поширеність алкоголізму з найбільшою розповсюдженістю у Європі та США разом із захворюваністю осіб без спадкової обтяженості та з існуванням вікових особливостей формування адиктивної поведінки [16–20]. У наших попередніх дослідженнях за умов хронічної алкоголізації виявлено пригнічення орієнтовно-дослідницької діяльності у поєднанні з підсиленням тривожно-фобічного реагування у безпорідних щурів зрілого віку [19] на відміну від стійкості емоційної поведінки у підлітково-пубертатному періоді онтогенезу [20]. Усе це свідчить про актуальність онтогенетичного характеру нашої роботи у напрямку підвищення трансляційного значення експериментальних парадигм для доклінічних досліджень.

Серед методичних підходів, які традиційно використовуються при вивченні засобів, що впливають на алкогольну мотивацію та здатні корегувати механізми регуляції емоційно-мотиваційної поведінки за умов хронічної алкогольної інтоксикації, загально розповсюдженим є надання тваринам вільного доступу (*ad libitum*) до 2 ємностей: одна з яких містить розчин етанолу, а інша – чисту питну воду. При цьому період превентивної хронічної алкоголізації нелінійних лабораторних щурів для розвитку алкогольної мотивації та подальшого визначення рівнів надання переваги етанолу коливається в межах від 4–8 до 1–2 міс постійного вільного доступу до алкоголю. Беручи до уваги анксиолітичні властивості останнього як депресанта ЦНС доцільним було б вивчення впливу його хронічного вживання на показники емоційно-афективної сфери у тварин із застосуванням етологічних методів спостереження у «темній-світлій камері» (ТСК), «піднесеному хрестоподібному лабіринті» (ПХЛ) і при підвішуванні за хвіст («поведінка відчаю») [21–26].

Метою нашого дослідження було нейроетологічне вивчення впливу тривалої алко-

голізації на рівень тривожності та схильності до депресивноподібної поведінки у щурів залежно від вираженості алкогольної мотивації за показниками надання переваги етанолу та середньодобової дози його споживання.

МЕТОДИКА

Усі процедури з лабораторними тваринами схвалено Комісією з питань етики та деонтології ДУ «Інститут неврології, психіатрії та наркології імені П. В. Волошина НАМН України» (протокол № 12 від 11.12.2023) і виконано відповідно до «Загальноетичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2011)», «Порядку проведення науковими установами дослідів та експериментів на тваринах» (№ 249 від 01.03.2012), Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006).

Дослідження виконане з використанням 14 нелінійних білих щурів репродуктивного віку (від 5 до 7 міс) [16, 27], масою тіла упродовж хронічного експерименту від $249,3 \pm 4,9$ до $293,6 \pm 9,7$ г, за умов звичного групового утримання при 20–25°C, відносній вологості повітря 75% та застосуванні стандартного повноцінного харчування. Визначали вихідні показники поведінки та їхні зміни після 30-денного вільного доступу до 15%-го розчину етанолу з урахуванням добової дози споживання та індексу надання йому переваги під час заключного тижня спостережень.

Для вивчення тривожно-фобічних тенденцій у тварин застосовували методи тестування у ТСК і ПХЛ, що ґрунтуються на підставі природного уникання гризунами відкритих яскраво освітлених просторів з наданням переваги тіньовим, закритим приміщенням. Етологічні спостереження (ТСК) здійснювали за допомогою приладу, що складається з 2 сполучених через отвір камер розміром 30×30 см: до першого (темного) відсіку через верхню кришку поміщали тварину, другий освітлювався зверху лампою розжарювання 100 Вт.

Для попереднього адаптування щура тримали у темному відсіку 3 хв, після чого над відкритою камерою вмикали світло та відкрили заслінку у перегородці. Спостереження за поведінкою тривало 5 хв, під час якого реєстрували: 1) латентний період (ЛП) першого визирання у світлу камеру; 2) кількість визирань та спроб виходу до світлої камери; 3) ЛП першого виходу до світлої камери; 4) кількість виходів до світлої камери; 5) загальний час перебування у світлій камері; 6) загальний час перебування у темній камері.

Тестування поведінки продовжували в установці ПХЛ, що складається з 4 рукавів, які під прямим (90°) кутом розходяться від центрального майданчика: 2 протилежних відкритих і 2 закритих стінками темних рукавів. Проти відкритих рукавів застосовували додаткове освітлення LED лампою 100 Вт. Розміри ПХЛ: висота над підлогою – 85 см, рукави – 50×15 см, центральний майданчик – 15×15 см; висота бокових стінок темних рукавів – 35 см.

Безпосередньо перед початком експерименту щура поміщали у темну клітку на 3 хв, після чого його переносили у центр ПХЛ головою до відкритого рукава і протягом 5 хв реєстрували такі показники: 1) початковий час перебування у центрі або ЛП виходу до відкритого рукава; 2) ЛП виходу до закритого рукава; 3) кількість відвідувань закритого рукава; 4) кількість відвідувань відкритого рукава; 5) тривалість перебування у закритому рукаві; 6) тривалість перебування у відкритому рукаві; 7) середня тривалість перебування у закритому рукаві; 8) середня тривалість перебування відкритому рукаві; 9) кількість відвідувань центру; 10) кількість визирань та спроб виходу у відкритий рукав; 11) кількість заглядань униз; 12) число актів грумінгу; 13) число вертикальних стійок.

Показниками рівня тривожності були: сумарний час та співвідношення (у відсотках) перебування тварин на відкритому просторі методики (світлі рукави і центральна частина) та у закритих рукавах, а також кількість

їх відвідувань. При цьому надання переваги закритим просторам установки і загальний час перебування в них свідчили про знижену стресостійкість та підвищену тривожність. І, навпаки, збільшення часу перебування та кількості відвідувань відкритих рукавів та центру відповідало більш низькому рівню тривожності тварин.

Тест фіксації за хвіст (ФХ, «поведінка відчаю») здійснювали протягом 60 с після попередньої 2-хвилинної адаптації тварини у відкритій звичній клітці, надалі щура виймали і тримали за середину хвоста у висячому положенні над поверхнею на висоті від 40 до 50 см. Враховували такі показники: 1) ЛП початку рухової активності; 2) кількість активних рухових дій для виходу у горизонтальне положення; 3) час дотику мордочки до хвоста; 4) число епізодів нерухомості; 5) загальна тривалість іммобільності; 6) середня тривалість епізоду нерухомості.

Збільшення ЛП початку рухової активності, часу дотику до хвоста; зниження кількості активних дій для виходу у горизонтальне положення, збільшення кількості епізодів нерухомості, середньої тривалості та загального часу іммобільності свідчило про підвищення вираженості депресивноподібного компонента емоційної поведінки щурів.

Урахування вихідних значень показників та їхніх змін внаслідок впливів, передбачених задачами експерименту, давало можливість виявлення депресивного або антидепресивного ефектів тривалої алкоголізації, які визначали за формулою:

$$A_{дА} = \left(\frac{\Phi_x - A_x}{\Phi_x} \right) \times 100 \%$$

де $A_{дА}$ – антидепресивна активність; Φ_x – середнє арифметичне фонових значень загального часу іммобільності; A_x – середнє арифметичне загального часу іммобільності під впливом алкоголізації.

Усі етологічні спостереження за щурами, які відносяться до сутінкових тварин, із застосуванням вищеописаних методик здійснювали у добовий період помірної емоційної

активності (від 12.00 до 14.00) у приміщенні звичного перебування. Для виключення ефекту гострої індивідуальної стрес-реакції на несподіваність ситуації експерименту та підвищення валідності застосованих методик усіх дослідних тварин піддавали 3-кратному тестуванню з подальшим розрахунком усереднених показників поведінки, що використовувалися для аналізу результатів дослідження.

Хронічну (3 тиж) щоденну, цілодобову алкоголізацію тварин 15%-м розчином етанолу (*ad libitum*) здійснювали з використанням градуйованих напівавтоматичних поїлок у вільній груповій поведінці за умов звичного утримання та стандартного годування. На 4-му тижні щурів поміщали в ізольовані клітки для тестування індивідуального рівня добового вживання етанолу, а також визначення індексу надання його переваги у 2-пляшковому тесті, який обчислювали за формулою:

$$\text{ІНП} = \left(\frac{V_{C_2H_5OH}}{V_{C_2H_5OH} + V_{H_2O}} \right) \times 100 \%$$

де ІНП – індекс надання переваги; $V_{C_2H_5OH}$ – об'єм 15% етанолу; V_{H_2O} – об'єм питної води.

Ці показники характеризували рівень алкогольної мотивації, за вираженістю якої щури були розподілені на дві групи: I ($n = 4$) – індекс надання переваги менше ніж 50%; II ($n = 10$) – індекс надання переваги понад 50%; I+II група ($n = 14$) – усі тварини незалежно від індексу надання переваги.

Дозу етанолу (грам на 1 кг), що вживали щури, визначали з урахуванням маси тіла тварини і щільності C_2H_5OH (0,81 г) за формулою, при цьому 1 мл 15%-го етанолу відповідав 0,121 г C_2H_5OH :

$$\text{ІД} = \left(\frac{V_{C_2H_5OH} \times 1000 \text{ г}}{\text{МТ}} \right)$$

де ІД – індивідуальна доза; $V_{C_2H_5OH}$ – об'єм алкоголю, що вживався, мл; МТ – маса тіла тварини, г.

Статистичну обробку результатів проводили із застосуванням програми «Microsoft

Excel» (непараметричний критерій *t* Стьюдента). Значення $P \leq 0,05$ вважали вірогідним.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За схемою проведення досліджень впливу хронічного вживання етанолу на емоційний стан лабораторних щурів проводилися початкові індивідуальні етологічні спостереження емоційно-рухової активності, тривожно-фобічного стану та депресивноподібної поведінки із застосуванням методів ПХЛ, ТСК і ФХ. Результати цих тестувань використовувалися як вихідні (фонові) характеристики поведінки дослідних тварин, яким надалі за умов звичного утримання забезпечували вільний цілодобовий доступ до алкоголю (*ad libitum*) із щоденною реєстрацією кількості його вживання протягом 30 днів.

По закінченні терміну добровільної алкоголізації показано, що у 28,6% дослідних щурів (I група) індекс надання переваги етанолу становив $21,85 \pm 3,37\%$; у 71,4% – $62,18 \pm 2,13\%$. Тенденція ($P \leq 0,1$) посиленого (на 184,58%) потягу до алкоголю у тварин II групи поєднувалася з підвищеною середньодобовою дозою вживання етанолу, яка становила $1,97 \pm 0,38$ і $2,81 \pm 0,26$ г/кг відповідно у I та II групах ($P \leq 0,001$; рис. 1).

Дослідження вихідних показників емоційної поведінки тварин через спостереження в ТСК (табл. 1), які сприяють виявленню схильності до тривожно-фобічного реагування у незнайомій ситуації та дають уявлення про вроджений тип орієнтовно-дослідницької діяльності, показало, що середньогрупові результати реєстрації окремих пунктів тестування хоча й мали певні відмінності, але не сягали статистичної значущості. Так, при їхньому зіставленні зі значеннями щурів II групи відзначалося деяке зниження ЛП першого визирання та кількості спроб виходу до освітленої камери і загального часу перебування в ній, проте, відсутність вірогідних ознак між групами свідчила про адекватний емоційний стан з нормальною руховою ак-

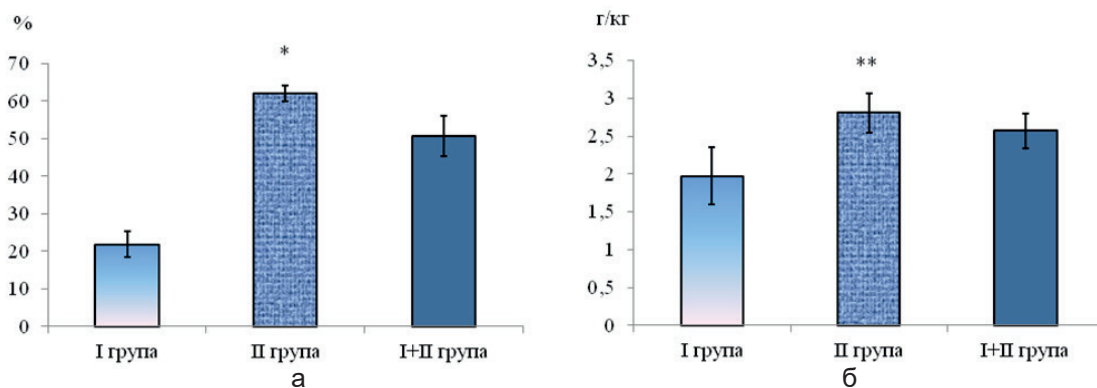


Рис. 1. Індекс надання переваги етанолу та індивідуальний рівень його вживання внаслідок тривалого доступу тварин до алкоголю *ad libitum*: а – індекс надання переваги етанолу, б – індивідуальний рівень вживання етанолу (за добу); I група – індекс надання переваги менше ніж 50%; II група – індекс надання переваги понад 50%; I+II група – усі тварини незалежно від індексу надання переваги. * $P \leq 0,1$; ** $P \leq 0,001$ порівняно з I групою

тивністю і браком вираженої тривожності у всіх дослідних тварин, незалежно від інтенсивності алкогольної мотивації.

При аналізі впливу тривалого вживання алкоголю на емоційний стан щурів методом ТСК (рис. 2), незалежно від групової приналежності, виявлено аналогічну спрямованість до зниження ЛП першого визирання, кількості виходів та часу перебування у світлій камері разом з наростанням тривалості ЛП виходу до неї з дещо більшою вираженістю у щурів

II групи. Це поєднувалося з підвищенням ЛП виходу у світлий відсік при практично незмінній тривалості перебування у темному та вказувало на тенденцію до гальмування орієнтовно-дослідницької активності разом зі збереженням вихідного рівня тривожно-фобічного стану (див. рис. 2).

Метод ПХЛ, що широко використовується для визначення тривожності, спровокованої стресом у незвичній ситуації, завдяки вмісту елементів, які притаманні тесту «відкриті

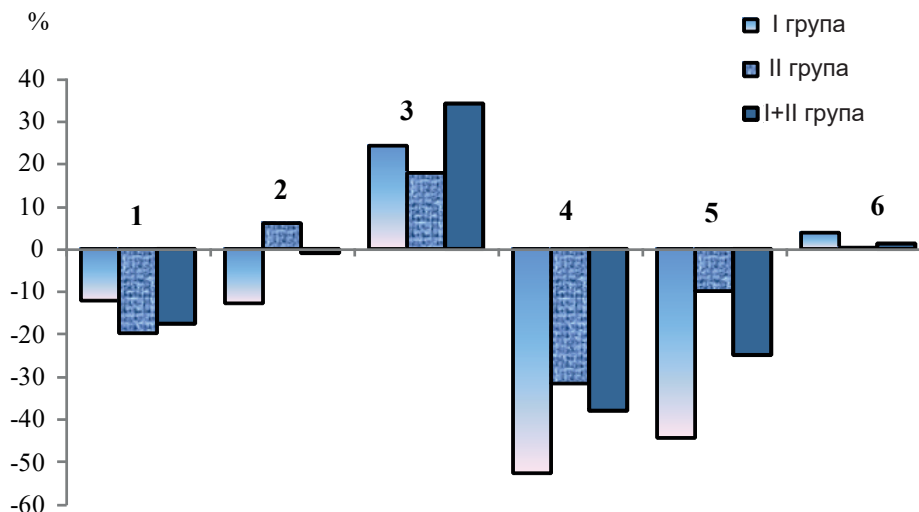


Рис. 2. Відносний вплив тривалої алкоголізації щурів на вихідні (фонові) показники емоційно-рухової поведінки у тесті «темна-світла камера»: 1 – латентний період (ЛП) першого визирання у світлу камеру (СК), 2 – кількість визирань/спроб виходу у СК, 3 – ЛП виходу до СК, 4 – кількість виходів до СК, 5 – загальний час перебування у СК, 6 – загальний час перебування у темній камері; 0 відсотків – фонові значення; I група – індекс надання переваги менше ніж 50%; II група – індекс надання переваги понад 50%; I+II група – усі тварини незалежно від індексу надання переваги

Таблиця 1. Дослідження тривожно-фобічного статусу тварин із застосуванням методу «темна-світла камера»

| Показник | I група (індекс надання переваги менше ніж 50%) | | II група (індекс надання переваги понад 50%;) | | I+II група (усі тварини незалежно від індексу надання переваги) | |
|--|---|----------------|---|----------------|---|---------------|
| | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація |
| Латентний період (ЛП) першого визирання у світлій камері (СК), с | 46,75 ± 31,18 | 41,13 ± 18,79 | 35,25 ± 15,92 | 28,25 ± 13,07 | 38,54 ± 13,84 | 31,93 ± 10,50 |
| Кількість визирвань/спроб виходу у СК | 14,75 ± 4,14 | 12,88 ± 4,28 | 10,08 ± 2,42 | 10,70 ± 2,34 | 11,42 ± 2,09 | 11,32 ± 2,00 |
| ЛП виходу до СК, с | 174,25 ± 47,51 | 216,88 ± 48,45 | 181,13 ± 39,08 | 213,55 ± 38,19 | 179,17 ± 30,08 | 214,5 ± 29,60 |
| Кількість виходів до СК | 1,33 ± 0,53 | 0,63 ± 0,47 | 1,17 ± 0,74 | 0,80 ± 0,35 | 1,21 ± 0,54 | 0,75 ± 0,28 |
| Загальний час перебування у СК, с | 24,96 ± 12,48 | 13,88 ± 9,44 | 12,93 ± 7,48 | 11,65 ± 5,13 | 16,37 ± 6,34 | 12,29 ± 4,36 |
| Загальний час перебування у темній камері (ТК), с | 275,04 ± 12,48 | 286,13 ± 9,44 | 287,07 ± 7,48 | 288,35 ± 5,13 | 283,63 ± 6,34 | 287,71 ± 4,36 |

Таблиця 2. Дослідження емоційно-рухової активності та рівня тривожності щурів методом спостережень у «піднесеному хрестоподібному лабіринті»

| Показник | I група (індекс надання переваги менше ніж 50%) | | II група (індекс надання переваги понад 50%) | | I+II група (усі тварини незалежно від індексу надання переваги) | |
|--|---|----------------|--|----------------|---|----------------|
| | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація |
| Первинний час перебування у центрі латентного періоду (ЛП) виходу до відкритого рукава (ВР), с | 2,67 ± 1,15 | 1,25 ± 0,14 | 9,53 ± 7,04 | 1,45 ± 0,22 | 7,57 ± 5,03 | 1,39 ± 0,16 |
| ЛП виходу до закритого рукава (ЗР), с | 16,17 ± 14,61 | 5,25 ± 4,09 | 11,93 ± 6,93 | 5,65 ± 2,12 | 13,14 ± 6,17 | 5,54 ± 1,83 |
| Кількість відвідувань ЗР | 3,29 ± 0,78 | 2,38 ± 0,80 | 3,25 ± 0,74 | 2,80 ± 0,79 | 3,26 ± 0,56 | 2,68 ± 0,60 |
| Кількість відвідувань ВР | 1,54 ± 0,73 | 1,00 ± 0,46 | 1,90 ± 0,62 | 1,40 ± 0,48 | 1,80 ± 0,47 | 1,29 ± 0,36 |
| Тривалість перебування у ЗР, с | 235,76 ± 33,24 | 273,00 ± 11,70 | 245,42 ± 19,20 | 264,40 ± 12,71 | 242,94 ± 16,02 | 266,86 ± 9,49 |
| Тривалість перебування у ВР, с | 48,42 ± 19,81 | 26,00 ± 11,59 | 44,98 ± 14,16 | 31,75 ± 12,87 | 45,96 ± 11,19 | 30,11 ± 9,55 |
| Середня тривалість перебування у ЗР, с | 115,42 ± 61,72 | 179,49 ± 64,13 | 129,52 ± 32,63 | 177,40 ± 36,81 | 125,49 ± 27,94 | 177,99 ± 30,68 |
| Середня тривалість перебування у ВР, с | 25,04 ± 8,22 | 21,63 ± 8,31 | 20,22 ± 5,54 | 23,52 ± 8,71 | 21,60 ± 4,47 | 22,98 ± 6,49 |
| Кількість відвідувань центру | 3,29 ± 1,33 | 2,00 ± 1,02 | 3,43 ± 0,95 | 2,75 ± 1,05 | 3,39 ± 0,75 | 2,54 ± 0,79 |
| Кількість визирвань/спроб виходу у ВР | 5,42 ± 2,03 | 4,50 ± 2,51 | 5,37 ± 1,52 | 3,85 ± 1,46 | 5,38 ± 1,19 | 4,04 ± 1,22 |
| Кількість заглядань униз | 5,00 ± 2,86 | 1,13 ± 0,38 | 3,12 ± 0,90 | 2,10 ± 0,67 | 3,66 ± 1,00 | 1,82 ± 0,49** |
| Число активів грумінг | 2,88 ± 0,38 | 4,50 ± 1,24 | 1,93 ± 0,48* | 2,60 ± 0,36 | 2,20 ± 0,37 | 3,14 ± 0,47 |
| Число вертикальних стійок | 7,50 ± 2,65 | 3,50 ± 1,59 | 7,03 ± 1,81 | 5,25 ± 1,27 | 7,17 ± 1,45 | 4,75 ± 1,01 |

*P ≤ 0,1 порівняно з I групою, **P ≤ 0,1 порівняно з фоном I+II групи.

поле», дає змогу виявляти також інтенсивність орієнтовно-дослідницької реакції на новизну та рівень прихованого емоційного напруження, що може так само провокувати чи підсилювати прояв тривоги і страху. При характеристиці емоційної поведінки тварин, розподілених на групи за індексом надання переваги етанолу у 2-пляшковому тесті, слід відмітити вже відзначену раніше відсутність вірогідності всіх 13 показників етологічних спостережень за умов ПХЛ, – 53,85% з яких були практично однаковими, що вкотре наголошувало на відсутність суттєвого значення стану емоційно-афективної сфери у забезпеченні схильності щодо формування набутого патологічного потягу до алкоголю у лабораторних щурів молодого статевозрілого віку (табл. 2).

У раптовій стресовій ситуації початковий час перебування на центральному майданчику установки дає уявлення про здатність до «прийняття рішення», тобто відображає певний стан когнітивних функцій, котрі

здебільшого зазнають негативного впливу внаслідок нейротоксичної дії етанолу. Зокрема, цей показник характеризувався найбільш вираженою чутливістю за умов тривалої алкоголізації *ad libitum* у вигляді скорочення перебування у центрі на початку тестування у ПХЛ, особливо у II групі, до якої входили тварини з більшим рівнем мотивації до вживання психоактивних речовин (рис. 3). Такий, на перший погляд, парадоксальний ефект, що сприяє покращенню когнітивної діяльності на цьому терміні попереднього вільного доступу та позбавлення алкоголю, ймовірно, свідчить про його суттєвий внесок у механізми подальшого формування стану залежності.

Таким чином, за підсумками аналізу поведінки у ПХЛ виявлено чотири напрямки наслідків добровільного вживання етанолу: 1) помірне (на 35%) гальмування рухової (за кількістю відвідувань закритих/відкритих рукавів і центру) та орієнтовно-дослідницької діяльності (число визирань/спроб виходу

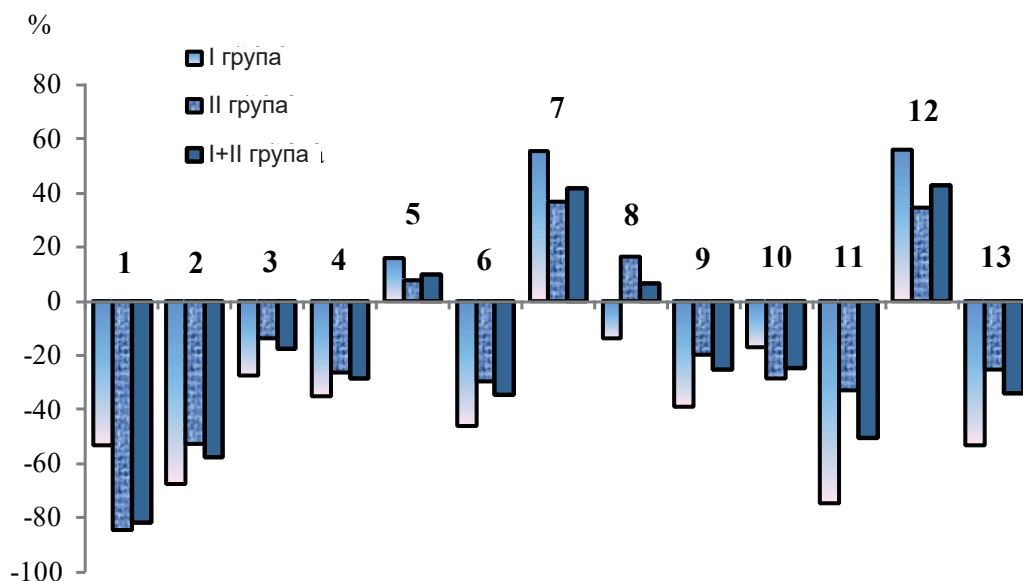


Рис. 3. Відносні зміни показників тривожності та емоційно-рухової активності щурів у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» внаслідок тривалої алкоголізації *ad libitum*: 1 – час перебування у центрі (латентний період – ЛП – виходу до відкритого рукава – ВР); 2 – ЛП виходу до закритого рукава (ЗР); 3, 4 – кількість відвідувань ЗР і ВР відповідно; 5, 6 – тривалість перебування у ЗР і ВР відповідно; 7, 8 – середня тривалість перебування у ЗР і ВР відповідно; 9 – кількість відвідувань центру, 10 – кількість визирань/спроб виходу у ВР, 11 – кількість заглядань униз; 12, 13 – число актів ґрунтігу та вертикальних стійок відповідно; 0 відсотків – фонові значення; I група – індекс надання переваги менше ніж 50%; II група – індекс надання переваги понад 50%; I+II група – усі тварини незалежно від індексу надання переваги

Таблиця 3. Дослідження депресивноподібного компоненту поведінки щурів із застосуванням моделі «поведінка відчаю»

| Показник | I група (індекс надання переваги менше ніж 50%) | | II група (індекс надання переваги понад 50%) | | I+II група (усі тварини незалежно від індексу надання переваги) | |
|--|---|---------------|--|---------------|---|---------------|
| | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація | фон | алкоголізація |
| Латентний період (ЛП) початку рухової активності, с | 2,38 ± 0,55 | 2,50 ± 0,20 | 3,00 ± 0,40 | 2,55 ± 0,17 | 2,82 ± 0,32 | 2,54 ± 0,13 |
| Час дотику до хвоста, с | 35,71 ± 14,03 | 15,13 ± 7,67 | 21,67 ± 5,99 | 16,15 ± 5,33 | 25,68 ± 5,82 | 15,86 ± 4,23 |
| Кількість активних дій для виходу у горизонтальне положення (ГП) | 15,21 ± 5,24 | 6,88 ± 2,83 | 15,55 ± 2,87 | 5,65 ± 1,40* | 15,45 ± 2,43 | 6,00 ± 1,23* |
| Кількість епізодів нерухомості (імобільності) | 2,13 ± 1,23 | 1,50 ± 0,87 | 2,22 ± 0,92 | 1,45 ± 0,95 | 2,19 ± 0,72 | 1,46 ± 0,70 |
| Загальна тривалість імобільності, с | 7,96 ± 4,64 | 3,38 ± 2,08 | 8,30 ± 3,53 | 4,65 ± 2,81 | 8,20 ± 2,75 | 4,29 ± 2,05 |
| Середня тривалість епізоду нерухомості, с | 1,87 ± 1,08 | 1,13 ± 0,69 | 1,73 ± 0,53 | 1,11 ± 0,58 | 1,77 ± 0,47 | 1,12 ± 0,45 |

*P ≤ 0,001 порівняно з фоном у межах групи.

у відкритий простір, заглядає вниз, вертикальні стійки); 2) підсилення тривожно-фобічного стану на підставі суттєвого (на 60%) зниження ЛП виходу до закритого лабіринту та скорочення (на 40%) загального часу перебування у відкритому рукаві з деяким його збільшенням у закритому; 3) покращення (!) когнітивних здібностей на основі полегшення прийняття рішення за результатами істотного скорочення (на 80%) часу початкового перебування на центральному майданчику, інакше – ЛП виходу до темного або світлого рукавів; 4) підвищення представленості грумінгу, з одного боку, як корелята адаптивного (комфортного!) компоненту емоційної поведінки на фоні позбавлення етанолу, з іншого боку, у разі збільшення часу та інтенсивності окремих актів грумінгу – могло свідчити про розвиток прихованої тривожності.

Дослідження депресивноподібного компоненту поведінки щурів здійснювали із застосуванням моделі «поведінка відчаю», що провокували фіксацією за хвіст на висоті 50 см від горизонтальної поверхні. Показники відображали активні (пункти 1, 2, 3) та пасивні (пункти 4, 5, 6) види поведінкової активності у відповідь на стрес, що відповідало стенічному або астенічному типам реагування ЦНС (табл. 3).

Вихідні значення показників дослідних груп, які вже традиційно не мали вірогідних відмінностей, односпрямовано змінювалися внаслідок алкоголізації, окрім кількості активних дій для досягнення горизонтального положення; до того ж зафіксовано значне (від 54,77 до 63,67%) зменшення рухової активності, що набуло статистичної ($P \leq 0,01$) значущості, а у щурів II групи взагалі демонструвало сумарний ефект впливу алкоголізації на стенічний компонент емоційно-рухової та когнітивної активності (рис. 4). Слід зазначити, що цей факт у поєднанні зі скороченням часу дотику до хвоста відображав оптимізувальний ефект на цілеспрямовану для досягнення горизонтального положення

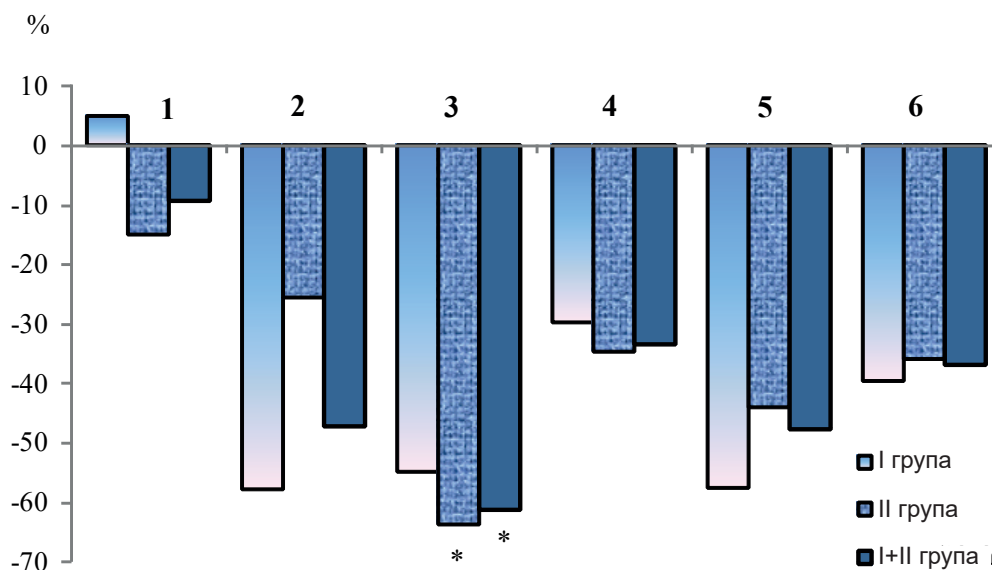


Рис. 4. Відносний вплив тривалої алкоголізації щурів на вихідні (фонові) показники депресивноподібної поведінки у тесті «фіксація хвоста» («поведінка відчаю»): 1 – латентний період початку рухової активності, 2 – час дотику до хвоста, 3 – кількість активних дій для виходу у горизонтальне положення, 4 – кількість епізодів нерухомості (імобільності), 5 – загальна тривалість імобільності, 6 – середня тривалість епізоду нерухомості; 0 відсотків – фонові значення; I група – індекс надання переваги менше ніж 50%; II група – індекс надання переваги понад 50%; I+II група – усі тварини незалежно від індексу надання переваги. * $P \leq 0,01$ вірогідно порівняно з I групою

поведінку у тварин, що регулярно піддавалися анксиолітичній дії етанолу завдяки його депресантним властивостям щодо ЦНС.

Водночас добровільне вживання алкоголю послаблювало астеничні прояви поведінки щурів у ситуації відчаю, що супроводжувалося зменшенням кількості та середнього часу епізодів нерухомості, а також загальної тривалості імобілізації. Це поєднувалося з адекватною позитивною антидепресивною спрямованістю відповіді на стрес у вигляді оптимізації гіперпродуктивності рухової діяльності, тим самим перешкоджаючи дезорганізації поведінки або пасивному відстороненню від «вирішення нагальних проблем» (!).

Отже, у результаті комплексного аналізу емоційного статусу щурів з різним рівнем алкогольної мотивації та інтенсивності споживання етанолу не виявлено вірогідних відмінностей як фонових (вихідних) показників, так і характеру їхніх змін після тривалого вживання 15%-го розчину етанолу (*ad libitum*). Зокрема, «преморбідний» стан

поведінки дослідних тварин відображався у широкому діапазоні реагування нелінійних білих щурів молодого репродуктивного віку (від 5 до 7 міс) на стреспровокувальні стимули застосованих методів спостереження, очевидно, завдяки оптимальному сталому функціонуванню ендокринної та нервової систем, найбільш пристосованих для існування виду.

Цей факт доповнюється даними наших попередніх досліджень наслідків тривалої алкоголізації із застосуванням тварин, що перебували на етапах набуття статевої зрілості та згасання репродуктивних функцій, в яких показано вірогідне пригнічення емоційно-рухової активності разом із підсиленням тривожно-фобічної складової поведінки у зрілих щурів разом з браком їхніх вірогідних змін за умов статевого дозрівання у щурів, які досягли репродуктивного віку [19, 20].

Таким чином, відсутність суттєвої модуляції емоційної сфери внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації у тварин молодого

дорослого віку може свідчити про більш низький віковий ризик розвитку потягу до психоактивних речовин порівняно з таким у критичні періоди онтогенезу.

ВИСНОВКИ

Превентивний 30-добовий вільний (*ad libitum*) доступ до 15%-го розчину етанолу у нелінійних лабораторних щурів сприяє розвитку алкогольної мотивації. За визначенням індексу надання переваги етанолу у двопляшковому тесті і середньодобової дози його вживання вони становили: у 29% дослідних тварин – $21,85 \pm 3,37\%$ і $1,97 \pm 0,38$ г/кг, у 71% – $62,18 \pm 2,13\%$ і $2,81 \pm 0,26$ г/кг відповідно.

За результатами дослідження емоційної поведінки з використанням методів спостереження у ТСК і ПХЛ показано відсутність вірогідних відмінностей вихідних показників та їхніх змін внаслідок тривалого вживання етанолу як загалом, так і залежно від рівня алкогольної мотивації.

Вплив тривалої алкоголізації *ad libitum* обмежувався тенденцією до гальмування рухової та орієнтовно-дослідницької активності з деяким підсиленням тривожності за умов ПХЛ на підставі скорочення (на 34,5%) загального часу перебування у відкритому рукаві, незначного (9,9%) його збільшення у закритому рукаві при зростанні (на 67,5%) їхнього співвідношення, а також середньої тривалості епізоду відвідування темного рукава.

За умов тривалої хронічної алкогольної інтоксикації у стані позбавлення етанолу виявлено «парадоксальне» поліпшення когнітивних функцій, котрі найчастіше зазнають негативного впливу внаслідок нейротоксичної дії етанолу, що разом з підвищенням представленості грумінгу як корелята адаптивного/компенсаторного прояву напруження емоційної поведінки, ймовірно, свідчило про певну роль цих механізмів у формуванні залежності у майбутньому.

Добровільне вживання алкоголю призвело до послаблення астенічних компонентів «поведінки відчаю» у відповіді щурів на спровокований фіксацією за хвіст стрес, що супроводжувалося зменшенням кількості середнього часу епізодів нерухомості та загальної тривалості іммобілізації, що визначало позитивну антидепресивну (!) спрямованість поведінки оптимізацією рухової діяльності, перешкоджаючи її дезорганізації або пасивному відстороненню від «вирішення нагальних проблем».

Отже, за умов хронічного вживання алкоголю *ad libitum* із застосуванням нелінійних щурів молодого репродуктивного віку виявлено стійкість або інертність структури емоційної поведінки, що разом з поліпшенням когнітивних функцій, до складу яких входять сприйняття, аналіз, запам'ятовування інформації, а також побудова та здійснення програми адекватних дій, свідчить про існування вікових особливостей формування залежності від алкоголю з розвитком «психо-емоційних» розладів та спонукає до ретельного вибору віку дослідних тварин стосовно задач експерименту.

Автор виражає найщирішу вдячність і подяку Ользі Кириченко за бездоганне плідне партнерство і витримку у плануванні та виконанні наукових досліджень, технічному забезпеченні експериментальних завдань з ідеальним доглядом і поводженням з тваринами.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

V. V. Geiko

THE INFLUENCE OF PROLONGED *AD LIBITUM* ETHANOL CONSUMPTION ON EMOTIONAL BEHAVIOR IN RATS WITH DIFFERENT LEVELS OF ALCOHOL MOTIVATION

SI «P.V. Voloshyn Institute of Neurology, Psychiatry and Narcology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv; e-mail: vvgeiko@gmail.com

Experimental studies of behavioral disorders due to the consumption of psychoactive substances through their realistic modeling by laboratory animals is becoming more and more relevant against the background of the inevitable psychogenic imperative associated with the war in Ukraine. In this aspect, emotional behavior is the resulting factor that generalizes and accompanies the mechanisms of psycho-emotional disorders, which are considered the most common mental diseases in the world. Under conditions of ethanol consumption *ad libitum*, with the use of ethological observation methods, we studied the character of the emotional response of non-linear white rats of young reproductive age in unusual stressful situations of the “elevated plus-maze”, “dark-light chamber” and “tail fixation”. The aim was to study the effect of long-term alcoholization on the level of anxiety and tendency to depressive-like behavior in animals, depending on the severity of alcohol motivation according to the ethanol preference index and the average daily individual dose of its consumption. As a result of a complex analysis of the behavior of rats with different levels of alcohol motivation under the conditions of free access to ethanol, it was found that there is no significant modulation of emotional activity. This indicates its stability or inertia, which, combined with improved cognitive functions, often negatively impacted by the neurotoxic effects of ethanol, and an increase in grooming behavior as a correlate of adaptive/compensatory manifestation of emotional stress, highlights the importance of considering age-related emotional and behavioral characteristics in the development of alcohol dependence mechanisms. Key words: nonlinear rats of young reproductive age; alcohol consumption *ad libitum*; preference index; alcohol motivation; neuroethological studies; anxiety-phobic state; depressive-like behavior.

REFERENCES

- Sinclair JD, Le AD, Kiiianmaa K. Genetically selected rat lines as models of alcoholism and alcohol intoxication. New York, 1992: 136-45.
- William J McBride, Zachary A Rodd, Richard L Bell, Lawrence Lumeng, Ting-Kai Li. The alcohol-preferring (P) and high-alcohol-drinking (HAD) rats-animal models of alcoholism. *Alcoholism*. 2014; 48 (3): 209-15.
- Richard L Bell, Zachary A Rodd, Eric A Engleman, Jamie E Toalston, William J McBride. Scheduled access alcohol drinking by alcohol-preferring (P) and high-alcohol-drinking (HAD) rats: modeling adolescent and adult binge-like drinking. *Alcoholism*. 2014; 48 (3): 225-34.
- Richard L Bella, Helen JK Sableb, Giancarlo Colomboc, Petri Hyytiad, Zachary A Rodde, Lawrence Lumeng. Animal models for medications development targeting alcohol abuse using selectively bred rat lines: Neurobiological and pharmacological validity. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012; 103 (1): 119-55.
- Anna Maria Borruto, Serena Stopponi, Hongwu Li, Friedbert Weiss, Marisa Roberto, Roberto Ciccocioppo. Genetically selected alcohol-preferring msP rats to study alcohol use disorder: Anything lost in translation? *Neuropharmacology*. 2021; 186: 108446.
- Goodwin DW. Studies of familial alcoholism: a review. *J Clin Psychiatr*. 1984;45,12:14-7.
- Schuckit MA, Li Ting-Kai, Cloninger C, Deitrich RA. Genetics of alcoholism. *Alcoholism*. 1985; 9,6:475-92.
- Penick ES, Reed MR, Crowley PA, Powell BJ. Differentiation of alcoholics by familial history. *J Stud Alcohol*. 1978;39,11:1944-48.
- Heyko VV. Features of neurobiological mechanisms of predisposition to alcoholism in the offspring of rats hereditarily burdened with alcoholism [dissertation]. Kharkiv, 1990.
- Howard J Edenberg, Tatiana Foroud. Genetics and alcoholism. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013; 10 (8): 487-94.
- Verhulst B, Neale MC, Kendler KS The heritability of alcohol use disorders: a meta-analysis of twin and adoption studies. *Psychol Med*. 2015;45:1061-72.
- Gelernter J, Polimanti R. Genetics of substance use disorders in the era of big data. *Nat Rev Genet*. 2021;22:712-29.
- Hatoum AS, et al. The addiction risk factor: a unitary genetic vulnerability characterizes substance use disorders and their associations with common correlates. *Neuropsychopharmacology*. 2022;47:1739-45.
- Sandra Sanchez-Roige, Abraham A Palmer, Toni-Kim Clarke. Recent efforts to dissect the genetic basis of alcohol use and abuse. *Biol Psychiatr*. 2020;87,7:609-18.
- Kember RL, et al. Genetic underpinnings of the transition from alcohol consumption to alcohol use disorder: shared and unique genetic architectures in a cross-ancestry sample. *Am J Psychiatr*. 2023;180,8:584-93.
- Vetter-O'Hagen C, Varlinskaya E, Spear L. Sex differences in ethanol intake and sensitivity to aversive effects during adolescence and adulthood. *Alcohol*. 2009;44, 6:547-54.
- Spear LP. The behavioral neuroscience of adolescence. WW Norton & Company, New York, 2010.
- Guerri C, Pasual M. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive & neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. *Alcohol*. 2010; 44,1:15-26.
- Heyko VV, Heyko MS, Selyukova TV. The effect of intranasal administration of dehydroepiandrosterone on the emotional state and zoosocial behavior of rats under conditions of long-term alcoholism. *Fiziol Zh*. 2022;68,1:45-55. [Ukrainian].
- Heyko VV, Heyko MS. Age-specific features of correc-

- tion of alcoholic motivation and voluntary alcohol consumption by intranasal administration of dehydroepiandrosterone under conditions of long-term preventive alcoholism (experimental study). Ukr Herald Psychoneurol. 2023;31,3 (116):66-73. [Ukrainian].
21. Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations. Kyiv: Avicenna, 2001.
 22. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. J Neurosci Method. 1985; 14 (3): 149-67.
 23. Rodgers RG, Cole JC. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. Ethol Psychopharmacol. 1994. 9-44.
 24. Fedorenko YuV, Gzhegotsky MR. The effect of the combined action of immobilization stress and cadmium on the dynamics of biochemical indicators in rats with active and passive behavior. Fiziol Zh. 2020; 66, 1: 44-51 [Ukrainian].
 25. Can A, Dao DT, Terrillion CE, et al. The tail suspension test. J Vis Exp. 2012; 59: e3769.
 26. Vogel HG. Drug discovery and evaluation: pharmacological assays (3rd edition). Springer Science & Business Media, Germany, 2008.
 27. Makhinko VI, Nikitin VM. Growth constant and functional periods of development in postnatal life of white rats. Mol Physiol Mechan Age-related Dev. 1975: 304-25 [Ukrainian].

*Матеріал надійшов
до редакції 31.07.2024*