



ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО СТРЕССОРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
НА ПОВЕДЕНИЕ И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ У МЫШЕЙ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ
C57BL/6 и DBA/2 С РАЗЛИЧНЫМ ПОТРЕБЛЕНИЕМ
АЛКОГОЛЯ В УСЛОВИЯХ СВОБОДНОГО ВЫБОРА

ГАМАЛЕЯ Н. Б., ВЕКШИНА Н. А., ШУМАЙЛОВ Н. Н.

ВНИИ общей и судебной психиатрии им. В. П. Сербского, Москва

У мышей линии C57BL/6 и DBA/2 с различным генетически закрепленным отношением к алкоголю выявлена неодинаковая реакция на 60-минутное электроблеводраздражение лап электрическим током частотой 50 Гц, напряжением 10 В, превышающимся каждую мин. Мыши линии DBA/2 (отвергающие этанол) хорошо адаптировались к стрессорному воздействию, что проявлялось лучшей выживаемостью, меньшим количеством прыжков и менее выраженной реакцией писка, чем у мышей линии C57BL/6, предпочитающих этанол. Мыши линии DBA/2 характеризовались в обычных условиях существенно более высоким уровнем адреналина в надпочечниках и серотонина в крови, чем мыши линии C57BL/6. При электроблеводраздражении у мышей линии DBA/2 отмечено выраженное повышение уровня дофамина в мозгу и крови, снижение уровня серотонина в крови и адреналина в надпочечниках. Свойства серотониновых рецепторов в мозгу животных изучаемых линий существенно не отличались в норме и не менялись под влиянием стрессорного воздействия. Аналогичные результаты получены при изучении уровня эндогенного этанола. Сделано заключение об относительно большей устойчивости мышей линии DBA/2 по сравнению с мышами линии C57BL/6 к кратковременному стрессорному воздействию, в основе которой может лежать ряд выявленных особенностей обмена биогенных аминов в мозгу и на периферии характеризующих эти линии мышей.

К настоящему времени накоплено много данных в пользу существования генетической предрасположенности к развитию алкоголизма. Одним из доказательств является существование стабильных линий лабораторных животных (мышей и крыс), предпочитающих в условиях свободного выбора раствор этанола или воду. Примером таких животных являются, в частности, мыши линий C57BL/6 и DBA/2, предпочитающие или отвергающие алкоголь соответственно [1], а также крысы линий AA (предпочитающие алкоголь) и ANA (отвергающие алкоголь), селекционированные по алкогольному предпочтению из родоначальной линии *Long Evans* [2]. Изучение биологических особенностей животных, предпочитающих алкоголь, в сравнении с животными, отвергаю-

шими этанол, является одним из путей решения проблемы предрасположенности к развитию алкоголизма, что имеет важное значение для разработки комплексных мер профилактики. В связи с наличием убедительных данных о значительной роли стресса в развитии алкоголизма у людей [3] представляет интерес определение чувствительности к воздействию стрессорных факторов лабораторных животных с генетически закрепленными различиями в характере алкогольной мотивации и выявление возможных биологических коррелятов. Целью настоящей работы явилось изучение влияния острого стрессорного воздействия на поведение и некоторые биохимические показатели у мышей инбредных линий C57BL/6 и DBA/2.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на мышках-самцах линий C57BL/6 и DBA/2 массой 18—20 г. Моделью острого стрессорного воздействия явилось электроболовое раздражение лап в камере с полом из металлических прутьев, на которые подавали переменный ток с частотой 50 Гц и напряжением 10 В. Каждую секунду ток прерывали с помощью прерывателя. Продолжительность стрессорного воздействия составляла 60 мин.

У мышей определяли уровни дофамина (ДА), норадреналина (НА) и серотонина (5-ОТ) в целом мозгу, уровни адреналина (А), НА и ДА в надпочечниках и уровни ДА и 5-ОТ в цельной крови. Биогенные амины определяли спектрофлуорометрическим методом [4]. В целом мозгу определяли также состояние серотониновых рецепторов методом радиорецепторного связывания [5] с использованием [³H]-5-ОТ (У. А. 14,4 Ки/ммоль) в концентрациях от 0,5 до 1 пмоль и меченого 5-ОТ в концентрации 10 мкмоль, в крови мышей—уровень эндогенного этанола методом газовой хроматографии [6].

Статистическую обработку проводили по t-критерию Стьюдента, о корреляционной связи судили по коэффициенту корреляции r .

Результаты исследования

Для определения уровня потребления алкоголя мышей помещали на 14 дней в индивидуальные клетки со свободным доступом к сухому корму и градуированным поилкам с водой и 10%-ным раствором этанола. Показатели первых трех дней не учитывали. У мышей линии C57BL/6 среднесуточное потребление 10% этанола составляло 110 ± 4 мл/кг (54—65% от всего объема выпитой жидкости), а у мышей линии DBA/2— $20,0 \pm 2,0$ мл/кг (7,1—9,5% от всего объема выпитой жидкости), что соответствует литературным данным [7].

Изучение поведения мышей при нанесении электроболового раздражения выявило следующие особенности. Мыши линии DBA/2 лучше адаптировались к электроболовому раздражению лап, их поведение было более спокойным, они меньше прыгали и пищали. Подсчет числа прыжков в первые 5 мин электрического раздражения выявил значи-

мые различия: у мышей линии DBA/2 количество прыжков составило 6.8 ± 3.3 , а у мышей линии C57BL/6— 56.8 ± 6.9 (различие достоверно, $p < 0.001$). В процессе стрессорного воздействия некоторые мыши C57BL/6 погибали. Сравнение общей двигательной активности мышей этих линий до воздействия стресса не выявило различий. Пороги электроболовой чувствительности, о которых судили по появлению писка и прыжков, у мышей указанных линий были сходными.

Таблица 1

Биохимические особенности линий мышей, предпочитающих или отвергающих алкоголь в условиях свободного выбора (фоновые показатели)

Ткань (ед. измерения)	C 57 BL 6 (n=12)			DBA 2 (n=14)		
	Линия			Линия		
Мозг (нг/г)	ДА 235±25	НА 292±42	5-ОТ 674±31	ДА 181±20	НА 275±12	5-ОТ 634±31
Надпочечники (нг/мг)	А 454±54	НА 247±34	5.60±2.20	А 601±47 ($p < 0.05$)	НА 231±29	ДА 6.60±2.50
Кровь (нг/мл)	ДА 213±17	5-ОТ 2062±171 ($p < 0.01$)	ДА 5-ОТ 0.11±0.02	ДА 235±26	5-ОТ 1361±122	ДА 5-ОТ 0.20±0.03 ($p < 0.05$)

Примечание: Здесь и в табл. 2 статистическую обработку проводили по 1-критерию Стьюдента (двусторонняя критическая область). Сравнение показателей (p) проведено между группами исследованных линий мышей. А—адреналин, ДА—дофамин, НА—норадреналин, 5-ОТ—серотонин.

Таблица 2

Биохимические особенности линий мышей, предпочитающих или отвергающих алкоголь в условиях свободного выбора, после стрессорного воздействия.

Ткань (ед. измерения)	C 57 BL 6 (n=18)			DBA/2 (n=20)		
	Линия			Линия		
Мозг (нг/г)	ДА 317±36	НА 278±17	5-ОТ 681±33	ДА 252±16	НА 238±36	5-ОТ 686±24
Надпочечники (нг/мг)	А 439±21	НА 234±16	13.6±3.0	А 391±43	НА 180±21	ДА 10.1±3.3
Кровь (нг/мл)	ДА 202±25	5-ОТ 1519±235	ДА 5-ОТ 0.17±0.04	ДА 442±89 ($p < 0.05$)	5-ОТ 982±115	ДА 5-ОТ 0.37±0.06 ($p < 0.05$)

Базальное значение исследованных нейробиохимических параметров у мышей представлены в табл. 1, а соответствующие показатели после стрессорного воздействия в табл. 2. Как видно из таблиц, отличительной особенностью мышей линии C57BL/6, предпочитающих этанол в условиях свободного выбора, является более низкий уровень А в надпочечниках и более высокий уровень 5-ОТ в крови, чем у мышей DBA/2, отвергающих этанол. В ответ на электроболовое раздражение лап у мышей обеих линий отмечены однонаправленные изменения уровней биогенных аминов в целом мозгу, при этом у мышей линии DBA/2 повышение уровня ДА достигало статистической значимости ($p < 0.01$), а стрессорное воздействие вызывало выраженное (на 37%) снижение уровня А в надпочечниках ($p < 0.01$) до уровня, близкого к таковому

у мышей линии С57BL/6, и более значительное, хотя и не достигающее статистической достоверности, снижение уровня НА в надпочечниках. В крови у мышей линии DBA/2 стресс вызывал достоверное повышение уровня ДА ($p < 0,05$) и снижение уровня 5-ОТ ($p < 0,05$), что определило и существенное повышение показателя ДА/5-ОТ ($p < 0,05$), характеризующего баланс между ДА- и 5-ОТ-ергической системами.

При исследовании свойств серотониновых рецепторов в целом мозгу мышей были выявлены некоторые различия в средстве рецепторов к 5-ОТ и в уровне общего специфического связывания, не достигавшие, однако, уровня статистической значимости. У мышей С57BL/6 базальные значения K_d составили $3,5 \pm 0,7$ пмоль, тогда как у мышей DBA/2— $2,5 \pm 0,5$ пмоль. После стрессорного воздействия эти значения составили $4,3 \pm 0,5$ и $5,0 \pm 0,6$ пмоль соответственно. V_{max} (в фмоль/мг белка) у мышей С57BL/6 составляла $222,0 \pm 51,0$ до стресса и $198,2 \pm 46,5$ после стресса, а у мышей DBA/2 $152,55 \pm 20,0$ и $218,0 \pm 25,6$ соответственно.

Определение уровня эндогенного этанола у одних и тех же животных до и после стрессорного воздействия не позволило выявить статистически значимых различий. Средний уровень эндогенного этанола у мышей линии С57BL/6 составил $31,9 \cdot 10^{-4} \pm 1,6 \cdot 10^{-4}\%$ до стресса, а у мышей линии DBA/2— $32,8 \cdot 10^{-4} \pm 2,5 \cdot 10^{-4}\%$. После стресса соответствующие значения были равны $34,8 \cdot 10^{-4} \pm 4,0 \cdot 10^{-4}\%$ и $31,7 \cdot 10^{-4} \pm 2,3 \cdot 10^{-4}\%$.

Обсуждение результатов

Из данных литературы известно, что инбредные линии мышей С57BL/6 и DBA/2 характеризуются рядом биологических особенностей. Одним из отличительных признаков является характер алкогольной мотивации, которому соответствует различная скорость метаболизма этанола и ацетальдегида. Мыши линии С57BL/6 предпочитают этанол в условиях свободного выбора и характеризуются высокой активностью альдегид- и алкогольдегидрогеназ по сравнению с мышами линии DBA/2 [1]. В работе Но и соавт. [8] выявлена еще одна отличительная особенность мышей линии С57BL/6: существенно более высокий уровень АХ в целом мозгу и более низкая активность АХЭ по сравнению с мышами линии DBA/2. Авторам не удалось обнаружить существенных различий у мышей обеих линий по таким нейрохимическим показателям, как уровень ДА, НА и 5-ОТ в целом мозгу, а также интенсивность захвата [3H]НА и [3H]ДА гомогенатами целого мозга.

В проведенном исследовании мы также не выявили значимых различий в уровнях биогенных аминов при исследовании целого мозга мышей тех же линий. Однако Ходорова и соавт. [9] установили значимые различия в уровнях 5-ОТ и НА в отдельных областях мозга мышей линии С57BL/6 и СВА (с низкой алкогольной мотивацией). Полученные нами результаты о высоком уровне А в надпочечниках у мышей линии DBA/2 совпали с данными Ciranello и соавт. [10], ко-

торые отмечали высокую концентрацию А и НА в надпочечниках у мышей этой линии.

Примененная в работе модель острого стрессорного воздействия позволила выявить некоторые различия в поведении мышей линии C57BL/6 и DBA/2. Кратковременное воздействие электрического тока вызывало более выраженные биохимические изменения у мышей линии DBA/2, физиологическое состояние которых в процессе воздействия стресса нарушалось в меньшей степени. У мышей обеих линий был отмечен подъем уровня ДА в целом мозгу, достигший у мышей линии DBA/2 уровня статистической значимости ($p < 0,01$). В литературе мы также находим сведения о том, что кратковременное стрессорное воздействие (иммобилизационный стресс в течение 35 мин) способствовало ускорению синтеза ДА в мезолимбических дофаминных нейронах у крыс [11], тогда как более длительное и сильное воздействие (иммобилизационный стресс в сочетании с раздражением электрическим током в течение 3 ч) вызывало снижение уровня ДА и НА в среднем мозгу и гипоталамусе крыс [12].

У мышей линии DBA/2 с низкой алкогольной мотивацией стрессорное воздействие вызывало выраженное снижение уровня А (в 1,57 раза, $p < 0,01$) в надпочечниках и существенное повышение (в 1,85 раза, $p < 0,05$) показателя ДА/5-ОТ в крови, связанное как со снижением уровня 5-ОТ, так и с повышением уровня ДА и свидетельствующее о преобладании в крови катехоламинергической активности. У мышей линии C57BL/6 стресс не вызывал существенного изменения исследованных биохимических параметров.

Интересно отметить, что между степенью предпочтения этанола и уровнем ДА в крови мышей после стресса была выявлена существенная отрицательная корреляция ($r = -0,44$, $p < 0,05$), а между степенью предпочтения этанола и концентрацией 5-ОТ в крови после стресса — положительная корреляция ($r = 0,392$), приближающаяся к уровню статистической достоверности.

В связи с существующей гипотезой, согласно которой важным фактором формирования алкогольной мотивации является низкий уровень эндогенного этанола и повышенная скорость элиминации этанола [13], у мышей линии C57BL/6 и DBA/2 было проведено определение эндогенного этанола. Нам, однако, не удалось выявить значимых различий в этом показателе между изучаемыми линиями мышей, хотя Ходорова и соавт. [9] отметили повышение у мышей линии C57BL/6 скорости элиминации тест-дозы этанола из кровяного русла, тогда как у мышей линии DBA/2 (с низкой алкогольной мотивацией) скорость элиминации этанола из крови была снижена. В нашем исследовании уровень эндогенного этанола в крови мышей после воздействия электроболевого раздражения практически не изменился, так что этот показатель является менее чувствительным, чем уровень биогенных аминов.

Полученные нами данные об относительно большей устойчивости мышей линии DBA/2, отвергающих алкоголь в условиях свободного

выбора, к кратковременному стрессорному воздействию (электроболе-вое раздражение лап) и соответственно большей чувствительности мыш-шей линии C57BL/6 можно сопоставить с данными, представленными в работе Бурова [14] о высокой конкурентоспособности в борьбе за биологически значимые цели у крыс, потребляющих малые количества алкоголя, а также с данными об увеличении у крыс с исходно высокой алкогольной мотивацией периферического и центрального пула β -эндор-фина как показателя стрессорной готовности этой группы живот-ных [15].

На основании проведенных нами исследований можно прийти к выводу, что мыши линий DBA/2 и C57BL/6 наряду с выраженными от-личиями в потреблении алкоголя в условиях свободного выбора по-разному реагируют на электроболевое раздражение лап, что может быть связано с рядом биологических особенностей, в том числе с базальным уровнем А в надпочечниках и его изменением под влиянием стресса, а также с характером изменения в результате воздействия электроболе-вого раздражения уровней ДА и 5-ОТ в крови. Нельзя исключить, конечно, и роли других факторов, не исследованных в данной работе, в частности, состояния эндогенной опиатной системы и др. Проведен-ные нами исследования подтверждают значение генетически детерми-нированных биологических особенностей лабораторных животных в обеспечении их устойчивости к стрессорным воздействиям. На возмож-ность генетического контроля реакции катехоламинов плазмы (А, НА) в ответ на воздействие иммобилизационного стресса, а также влияния этанола на характер этой реакции у крыс указали Vogel и Deturck [16]. Для более определенных выводов о причинно-следственных связях между потреблением алкоголя в условиях свободного выбора и характером реак-ции на стрессорное воздействие, а также рядом нейрохимических осо-бенностей необходимо проведение сравнения линии мышей C57BL/6 также с другими линиями мышей, отвергающих этанол (например, CBA).

THE INFLUENCE OF ACUTE STRESS ON BEHAVIOR AND SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS IN INBRED LINES OF MICE C57 BL/6 AND DBA/2 WITH DIFFERENT FREE CHOICE ALCOHOL CONSUMPTION

GAMALEYA N. B., VEKSHINA N. L., SHUMAYLOV I. N.

All-Union Institute of General and Forensic Psychiatry, Moscow

Different reaction to acute stress (electric footshock produced by alternating current, 50 Hz, 10 v, interrupted every second, lasting for 60 minutes) was observed in two inbred lines of mice C57 BL/6 and DBA/2 with different genetically determined attitude to alcohol. The DBA/2 mice (rejecting alcohol) adapted well to stress, which was manifested by better survival, fewer jumps and weaker peeping reaction,

than in C57 BL/6 mice (preferring alcohol). The LEA/2 mice were characterized by higher basal levels of epinephrine in adrenals as well as higher levels of serotonin in blood in comparison with the C57 BL/6 mice. In the DBA/2 mice the electric footshock produced a pronounced increase in dopamine levels in the whole brain and blood, a decrease in serotonin levels in blood and epinephrine levels in adrenals. The properties of serotonergic receptors, in brains of mice of the mentioned lines did not differ significantly before stress nor changed under the influence of stress. The analogous results were obtained when the levels of endogenous ethanol were studied. It's concluded that the mice of the DBA/2 line are more resistant to acute stress than the mice of the C57 BL/6 line which can be based on some biochemical properties of their biogenic amines metabolism in brain and periphery.

ЛИТЕРАТУРА

1. Festing M. F. W. Inbred strains in biomedical research. Medical Research Council Laboratory Animals Centre Carshalton, Surrey, U. K., 1979.
2. Eriksson K. Ann. Med. exp. Fenn., v. 49, p. 67-72, 1971.
3. Linsky A. S., Murray A. S., Colby J. P. J. Stud. Alcohol, v. 46, p. 72-80, 1985.
4. Козан Б. М., Нечасов Н. В. Лаб. дело, № 5, с. 301-304, 1979.
5. Diggory G. L., Buckett W. R. Neuropharmacology, v. 24, p. 275, 1985.
6. Кудрявцев Р. В., Ушакова М. М. Судебно-медицинская экспертиза, № 3, М., Медгиз, 1980.
7. Майский А. И., Шошина С. В.—В сб.: Фармакология экспериментального алкоголизма, с. 28-42, М., 1982.
8. Ho A. K. S., Tsal C. S., Kissin B. Pharm. Biochem. and Behav., v. 3, p. 1073-1076, 1975.
9. Ходорова Н. А., Власова Н. В., Майский А. И. Бюл. эксперим. биол. и мед., № 9, с. 284-285, 1984.
10. Ciranello R. D., Barchas S., Kessler S., Barchas J. D. Life Sci., v. 11, p. 565, 1972.
11. Watanabe H. Neuropharmacology, v. 23, p. 1335-1338, 1984.
12. Станишевская А. В., Мезенцева Л. Н. Фармакология и токсикология, № 1, с. 9-12, 1977.
13. Буров Ю. В., Ведерникова Н. Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма, с. 63, М., Медицина, 1985.
14. Буров Ю. В.—В сб.: Биологические основы алкоголизма, с. 149-155, М., 1984.
15. Буров Ю. В., Ведерникова Н. Н. Нейрохимия и фармакология алкоголизма с. 124, М., Медицина, 1985.
16. Vogel W. H., Deturek K. H.—In: Stress and alcohol use (ed. Pohorecky L. A., Brick J.), p. 429-438, Elsevier Biomed. Press, New York, 1983.

Поступила 15. III 1987