

## Неврологический статус и предпочтение этанола у крыс при формировании алкогольной зависимости

*Александр Сергеевич Тарасов<sup>2</sup>, Лилия Петровна Кнышова<sup>1,2\*</sup>,  
Евгений Игоревич Морковин<sup>1,2</sup>, Анатолий Трофимович Яковлев<sup>2</sup>,  
Сергей Викторович Поройский<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Волгоградский медицинский научный центр, г. Волгоград, Россия;*

*<sup>2</sup>Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград, Россия;*

### Реферат

DOI: 10.17816/KMJ2018-446

**Цель.** Оценить особенности неврологического статуса и питьевого поведения крыс в течение 20 сут хронической алкоголизации.

**Методы.** Работа выполнена на 40 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 170–300 г. Животные экспериментальных групп получали 15% раствор этанола в качестве единственного источника жидкости. На 20-е сутки эксперимента был выполнен тест предпочтения этанола и произведена оценка неврологического статуса: проводили подвешивание животных за хвост (для выявления парезов и параличей), оценивали двигательную активность в домашней клетке (выявление нарушений походки и стереотипных движений) и особенности хождения по горизонтальной балке (оценка координации движений), проверяли сохранность основных рефлексов (стартл-рефлекс, рефлекс наружного слухового прохода, роговичный рефлекс).

**Результаты.** Основные проявления неврологического дефицита были представлены атактической формой, при которой на первый план выступает неуверенная походка животного по планке. В экспериментальных группах обнаружено появление признаков атактической формы неврологического дефицита, проявившейся соскальзыванием и падением животных с горизонтальной балки в течение первых 40 с наблюдения. Это сопровождалось статистически значимым увеличением коэффициента предпочтения алкоголя.

**Вывод.** При моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс обнаружены статистически значимые изменения в поведении и предпочтении этанола на 20-е сутки эксперимента, свидетельствующие о формировании алкогольной зависимости; изменения в поведении сопровождались появлением признаков лёгкого и умеренного неврологического дефицита, преимущественно включавших нарушения координации движений, что иллюстрирует поражение периферической нервной системы.

**Ключевые слова:** этанол, алкогольная зависимость, неврологический статус, хроническая алкоголизация, питьевое поведение.

### Neurological status and ethanol preference in rats during alcohol addiction formation

*A.S. Tarasov<sup>2</sup>, L.P. Knyshova<sup>1,2</sup>, E.I. Morkovin<sup>1,2</sup>, A.T. Yakovlev<sup>2</sup>, S.V. Poroytsky<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia;*

*<sup>2</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia*

**Aim.** To estimate the features of neurological status and drinking behaviour in rats during 20 days of chronic alcohol intake.

**Methods.** The current study was performed on 40 male Wistar rats (170–300 g). The animals from the study group were administered 15% solution of ethanol used as the only fluid source. On day 20 of the experiment the alcohol preference test and evaluation of neurological status were performed: tail-suspension (to determine paresis and paralysis), home cage motion activity (to determine gait disorders and stereotypic movements) and features of horizontal beam-walking (evaluation of movement coordination) were assessed, presence of the basic reflexes (startle reflex, external auditory canal reflex, corneal reflex) was controlled.

**Results.** The main neurological signs were presented as ataxic form, in which unsteady gait in beam-walking test was predominant. In the experimental groups, the signs of ataxic form of neurological deficit were demonstrated, when animals slipped off and fell off the beam within 40 s from the beginning of the test. This was associated with the significant increase of discrimination ratio in alcohol preference test.

**Conclusion.** In rat models of chronic alcohol intake, significant changes in drinking behavior and alcohol preference test were found on day 20 of the experiment, reflecting formation of alcohol addiction; changes in drinking behavior were associated with mild and moderate neurological deficit, primarily including movement coordination disorders that illustrates the malfunction of peripheral nervous system.

**Keywords:** ethanol, alcohol addiction, neurological status, chronic alcohol intake, drinking behavior.

Алкогольная зависимость — серьёзная медицинская и социальная проблема. При прогрессировании алкоголизма нарастают характерные для данного заболевания психические, неврологические и соматические изменения [1].

Неврологические расстройства при хроническом алкоголизме могут проявляться уже в начальной стадии заболевания. Неврологические синдромы сочетают признаки как выпадения (парезы, гипестезии и пр.), так и раздражения (судороги, парестезии, менингеальные явления и пр.) тех или иных функций [2]. В последующем они становятся более выраженными и стойкими, поэтому возникает необходимость в наиболее объективной и точной их оценке.

Шкалы, широко применяемые для оценки неврологического дефицита, например шкала MacGraw в модификации Ганнушкиной и шкала Garcia [3], позволяют выявить тяжёлые проявления, возникающие при моделировании у животных различных нарушений мозгового кровообращения. Существенный недостаток этих шкал — невозможность выявления неврологических расстройств лёгкой и умеренной степени тяжести. В настоящей работе предпринята попытка оценить применимость шкалы mNSS (от англ. Modified Neurological Severity Scores) [4, 5] для выявления неврологического дефицита у крыс при формировании алкогольной зависимости.

Цель исследования — оценить особенности неврологического статуса, используя шкалу тяжести mNSS, и питьевого поведения крыс в течение 20 сут добровольной хронической алкоголизации.

Работа выполнена на базе лаборатории психофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета. Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах линии Wistar с массой тела 170–300 г, которые были распределены на четыре группы: две контрольных (в возрасте 3 и 6 мес), содержащихся на стандартном водно-пищевом рационе, и две экспериментальных (в возрасте 3 и 6 мес). Животные экспериментальных групп получали 15% раствор этанола в качестве единственного источника жидкости для моделирования хронической алкоголизации [6]. Световой цикл в помещениях был инвертирован для исключения негативного влияния суточных биоритмов на пищевое и питьевое поведение животных.

С целью оценки тяжести неврологической симптоматики на 20-е сутки эксперимента нами была использована шкала тяжести неврологической симптоматики mNSS, ранее применявшаяся в ряде исследований, посвящённых нарушениям мозгового кровообращения [5, 7, 8], выбор которой был также обоснован рекомендациями по оценке функционального состояния грызунов при моделировании неврологической патологии (табл. 1).

В соответствии с данной шкалой проводили подвешивание животных за хвост (для выявления парезов и параличей), оценивали двигательную активность в домашней клетке (выявление нарушений походки и стереотипных движений) и особенности хождения по горизонтальной балке (оценка координации движений), проверяли сохранность основных рефлексов (стартл-рефлекс, рефлекс наружного слухового прохода, роговичный рефлекс). Выводы о наличии неврологического дефицита делали на основании суммы баллов, набранных в каждом тесте: 1–6 баллов соответствуют лёгкому, 7–12 баллов — умеренному, 13–18 баллов — тяжёлому неврологическому дефициту.

На 20-е сутки эксперимента с целью подтверждения алкоголизации организма животного проводили тест предпочтения этанола. Для этого животных отсаживали в индивидуальные клетки на 2,5 ч. После 2-часовой водно-пищевой депривации в клетку помещали две поилки: с чистой водой и с 15% раствором этанола. В течение следующих 30 мин подсчитывали объёмы выпитой жидкости и общее время контакта с каждой из поилок. После измерения объёма выпитой жидкости высчитывали коэффициент предпочтения алкоголя (D):

$$D (\%) = 100 \times V_{\text{алк}} / V_{\text{общ}}$$

где  $V_{\text{алк}}$  — объём этанола,  $V_{\text{общ}}$  — общий объём.

Статистическая обработка выполнена при помощи программы GraphPad Prism 5.0. Проверка распределения осуществлена по критериям Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка, данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха —  $M (Q_1; Q_3)$ . Межгрупповые различия оценивали по  $U$ -критерию Манна–Уитни и при помощи двухфакторного дисперсионного анализа с пост-хок тестом Ньюмена–Кейлса.

На 20-е сутки эксперимента с целью оценки тяжести неврологической симптоматики была использована шкала тяжести



неврологической симптоматики mNSS. Показатели, полученные при алкоголизации животных, соответствовали границам лёгкого и умеренного неврологического дефицита. Основные проявления неврологического дефицита были представлены атактической формой, при которой на первый план выступает неуверенная походка животного по планке.

В экспериментальных группах было обнаружено появление признаков атактической формы неврологического дефицита, проявившейся соскальзыванием и падением животных с горизонтальной балки в течение первых 40 с наблюдения. Средний балл, набранный животными экспериментальных групп, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) превышал показатели контрольных групп на 3,5–4 балла (рис. 1) и составлял 5 (3,5; 6,25) и 4,5 (3; 6) балла в возрасте 3 и 6 мес соответственно. Достоверных различий между группами, связанных с возрастом животных, выявлено не было.

Формирование психологической зависимости нам удалось отследить путём проведения теста предпочтения алкоголя. В ходе работы были обнаружены изменения в питьевом поведении крыс. Коэффициент предпочтения алкоголя в контрольной группе 3-месячных животных составлял 10% (0%; 27%), что статистически значимо ( $p < 0,01$ ; рис. 2) уступало показателям экспериментальной группы, которые достигали 28,6% (24,3%; 85%). У животных 6-месячного возраста коэффициент предпочтения алкоголя был выше: 16,8% (0%; 50%) в контроле и 58,5% (32,4%; 75,7%) в экспериментальной группе ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в обеих экспериментальных группах зарегистрировано статистически значимое увеличение коэффициента предпочтения алкоголя.

## ВЫВОДЫ

1. При моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс обнаружены статистически значимые изменения в питьевом поведении и предпочтении этанола на 20-е сутки эксперимента, что свидетельствует о формировании алкогольной зависимости.

2. Изменения в питьевом поведении сопровождались появлением признаков лёгкого и умеренного неврологического дефицита, выявляемых с помощью шкалы mNSS.

3. Наблюдаемые признаки неврологического дефицита преимущественно включали нарушения координации движений, что иллюстрирует поражение периферической нервной системы.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Наркология*. Национальное руководство. Под ред. Н.Н. Иванца, И.П. Анохиной, М.А. Винниковой. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2016; 944 с. [*Narcologia*. National guideline.] Ed. by N.N. Ivanets, I.P. Anokhina, M.A. Vinnikova. Moscow: GEOTAR-media. 2016; 944 p. (In Russ.)]
2. Лукачев Г.Я., Посохов В.В. Неврологические изменения у больных хроническим алкоголизмом. *Сов. мед.* 1975; (12): 95–100. [Lukachev G. Ya., Posokhov V.V. Neurological changes in patients with chronic alcoholism. *Sovetskaya meditsina*. 1975; (12): 95–100. (In Russ.)]
3. Garcia J.H., Wagner S., Liu K.F., Hu X.J. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation. *Stroke*. 1995; 26 (4): 627–634. DOI: 10.1161/01.STR.26.4.627.
4. Морковин Е.И., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы. *Ж. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2018; 68 (1): 3–15. [Morkovin E.I., Kurkin D.V., Tyurenkov I.N. The assessment of psychoneurological impairments in rodents: basic methods. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti im. I.P. Pavlova*. 2018; 68 (1): 3–15. (In Russ.)] DOI: 10.7868/S004446771801001X.
5. Chen J., Sanberg P.R., Li Y. et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*. 2001; 32: 2682–2688. DOI: 10.1161/hs1101.098367.
6. Кнышова Л.П., Поройский С.В., Яковлев А.Т. и др. Критерии достоверности воспроизведения экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации. *Волгоградский науч.-мед. ж.* 2016; (4): 48–51. [Knyshova L.P., Poroyskiy S.V., Yakovlev A.T. et al. Reliability criteria for developing an experimental simulation model of chronic alcohol intoxication. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2016; (4): 48–51. (In Russ.)]
7. Куркин Д.В., Морковин Е.И., Верхоляк Д.В. и др. Изменение скорости мозгового кровообращения у крыс при экспериментальном моделировании стеноза общих сонных артерий. *Вестн. Волгоградского гос. мед. ун-та*. 2017; (1): 36–39. [Kurkin D.V., Morkovin E.I., Verkholyak D.V. et al. Changes in cerebral blood flow in rats with experimental stenosis of common carotid arteries. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2017; (1): 36–39. (In Russ.)]
8. Schaar K.L., Brenneman M.M., Savitz S.I. Functional assessments in the rodent stroke model. *Experim. Translational Stroke Med.* 2010; 2: 13. DOI: 10.1186/2040-7378-2-13.