



# Влияние однократного введения этанола на поведение, его потребление и предпочтение у крыс, селекционируемых на ручное и агрессивное поведение по отношению к человеку

Р.В. Кожемякина<sup>1</sup>✉, С.Г. Шихевич<sup>1</sup>, А. Каган<sup>2</sup>, Р.Г. Гулевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Институт Макса Планка эволюционной антропологии, Лейпциг, Германия

Согласно гипотезе о снятии напряжения, повышенный уровень тревожности или стресса может приводить к большему потреблению алкоголя и алкогольной зависимости. Однако это не всегда подтверждается данными, полученными на экспериментальных животных. Одной из моделей для исследования связи между тревожностью, функцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и предрасположенностью к алкогольной зависимости может быть селекционная модель серых крыс с ручным и агрессивным поведением по отношению к человеку. Ранее у ручных крыс отмечали ослабление тревожно-подобного поведения и понижение функциональной активности ГГНС, судя по уровню кортикостерона и адренкортикотропного гормона (АКТГ) в крови в условиях покоя и при стрессе по сравнению с агрессивными и неселекционируемыми животными. В данной работе оценивали предпочтение и потребление этанола разной концентрации в условиях свободного доступа к этанолу и воде (two bottle-choice paradigm), а также влияние однократного введения этанола на поведение в приподнятом крестообразном лабиринте у самцов крыс с агрессивным и ручным поведением. У ручных и агрессивных самцов после внутрибрюшинного введения алкоголя отмечали уменьшение числа вертикальных стоек в центре приподнятого крестообразного лабиринта, которое достигало уровня значимости только у первых. Такое изменение свидетельствует не только об отсутствии анксиолитического действия 12 %-го этанола, но и усилении тревожно-подобного поведения у ручных крыс. Агрессивные крысы превосходили ручных по потреблению 2 %-го этанола, тогда как потребление 10 %-го и предпочтение 5 %-го раствора у ручных было достоверно выше, чем у агрессивных. После семидневной отмены спирта у ручных крыс наблюдали эффект депривации, поскольку его потребление становилось больше, чем до отмены. Таким образом, различия в потреблении этанола между ручными и агрессивными крысами меняются в зависимости от концентрации раствора. Агрессивные самцы пьют только 2 %-й раствор больше, чем ручные, и поэтому гипотеза о снятии напряжения подтверждается именно для этой концентрации.

Ключевые слова: этанол; отбор по поведению; ручные и агрессивные крысы; тревожно-подобное поведение; приподнятый крестообразный лабиринт; эффект депривации.

## Effect of single ethanol administration on behavior and the consumption and preference of ethanol in tame and aggressive rats

R.V. Kozhemyakina<sup>1</sup>✉, S.G. Shikhevich<sup>1</sup>, A. Cagan<sup>2</sup>, R.G. Gulevich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany

According to the hypothesis of stress relief, a high level of anxiety or stress may cause greater alcohol consumption and alcohol addiction. However, data obtained with experimental animals do not always confirm this statement. Model strains of Norway rats selected for tame and aggressive attitude to humans are some of the models for investigation of relationships among anxiety, the function of the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis, and predisposition to alcohol addiction. Former studies of tame rats, based on the blood levels of corticosterone and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in rest and stress, revealed a decrease of the manifestation of anxiety-like behavior and of the HPA function in comparison to aggressive and unselected rats. This work assesses the preferred consumption of ethanol at various concentrations with free access to ethanol and water (two bottle-choice paradigm) and the effect of acute ethanol administration on the behavior of aggressive and tame male rats in an elevated plus maze. After intraperitoneal alcohol administration, tame and aggressive males showed a reduced number of rearings in the center of the elevated plus maze, but the reduction was statistically significant only in the former. It pointed not only to the absence of an anxiolytic action of 12 % ethanol but also to enhancement of anxiety-like behavior in tame rats. After seven-day alcohol withdrawal, tame rats showed signs of deprivation, because the alcohol consumption was greater than before the withdrawal. Thus, the difference between tame and aggressive rats in alcohol consumption



varies with alcohol concentration. Aggressive males drank more alcohol than water only at the 2 % concentration. Hence, the hypothesis of stress relief is confirmed only for this concentration.

**Key words:** ethanol; selection for behavior; tame and aggressive rats; anxiety-like behavior; elevated plus maze; effect of deprivation.

**КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:**

Кожемякина Р.В., Шихевич С.Г., Каган А., Гулевич Р.Г. Влияние однократного введения этанола на поведение, его потребление и предпочтение у крыс, селекционируемых на ручное и агрессивное поведение по отношению к человеку. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(2):165-171. DOI 10.18699/VJ16.147

**HOW TO CITE THIS ARTICLE:**

Kozhemyakina R.V., Shikhevich S.G., Cagan A., Gulevich R.G. Effect of single ethanol administration on behavior and the consumption and preference of ethanol in tame and aggressive rats. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(2):165-171. DOI 10.18699/VJ16.147

Известно, что социальный стресс, вызванный конфликтами в семье или на работе, чаще, чем другие виды стресса, провоцирует потребление алкоголя и оказывает наиболее стойкий эффект на аддиктивное (зависимое) поведение (de Wit et al., 2003; Kudryavtseva et al., 2006; Thomas et al., 2011). Глюкокортикоиды как основные гормоны стресса, взаимодействуя с мезолимбической системой, опосредуют стресс-индуцированное потребление алкоголя (Spanagel et al., 2014). Согласно гипотезе о снятии напряжения, индивидуумы с повышенной тревожностью могут быть более чувствительны к анксиолитическому действию алкоголя и, возможно, поэтому более предрасположены к его потреблению (Conger, 1956). Однако эта гипотеза не всегда подтверждается экспериментально. В частности показано, что у крыс Wistar, селекционированных на повышенную тревожность (high anxiety behavior, HAV), потребление и предпочтение этанола ниже, чем у животных контрастной линии (low anxiety behavior, LAB) (Henniger et al., 2002).

По мнению ряда авторов, критическим механизмом аддиктивного поведения является индуцированное алкоголем повышение дофамина в прилежащем ядре (nucleus accumbens), входящем в мезолимбическую систему мозга (Comings, Blum, 2000; Blum, Oskar-Berman, 2014). Поскольку дофамин влияет на чувство удовольствия и подавляет стрессорное состояние, то самолечение алкоголем приводит к временному облегчению дискомфорта и ложному ощущению благополучия. Однако хроническое злоупотребление алкоголем и других психоактивных веществ приводит к подавлению синтеза этого нейротрансмиттера и рецепторной дисфункции (Comings, Blum, 2000).

Для исследования генетических и нейробиологических механизмов алкоголизма методом отбора в нескольких лабораториях были созданы модельные линии крыс, различающиеся по предпочтению к этанолу (Stewart et al., 1993; Colombo et al., 1995; Möller et al., 1997). Однако практически нет данных по потреблению алкоголя у животных, селекционированных по социально значимым признакам поведения, к которым следует отнести и реакцию на социальный стресс. В связи с этим имеющиеся в ИЦиГ СО РАН уникальные линии серых крыс, в течение длительного периода (80 поколений) отбираемых по реакции на человека, а именно на агрессивное и толерантное (спокойное) отношение к человеку, могут служить адекватной моделью для исследования генетически

детерминированных особенностей потребления алкоголя и аддиктивного поведения. Ранее проведенные исследования показали, что отбор крыс по реакции на человека сопровождается изменением широкого спектра физиологических и поведенческих параметров (Plyusnina, Oskina, 1997; Albert et al., 2008). Так, у спокойных (ручных) крыс наблюдали понижение функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), ослабление тревожно-подобного поведения и внутривидовой агрессии в тесте «резидент-интродер», а также более продолжительный латентный период агрессивных столкновений в тесте социальных взаимодействий по сравнению с агрессивными и неселекционируемыми животными (Naumenko et al., 1989; Plyusnina et al., 2011; Gulevich et al., 2015). При отборе крыс на спокойное поведение отмечали изменение уровня дофамина, а также плотности и связывающей способности рецепторов дофамина в мезолимбической системе мозга по сравнению с неселекционированными животными (Nikulina et al., 1992). По данным исследователей из Лейпцига, уровень дофамина в прилежащем ядре у ручных крыс выше, чем у агрессивных (Albert et al., 2008). В последнее время было показано, что экспрессия мРНК гена дофаминовых рецепторов (DRD2) в миндалине у ручных крыс выше, чем у агрессивных и неселекционированных крыс.

Поскольку отбор крыс по реакции на человека влияет на ГГНС и дофаминергическую систему в мезолимбических структурах мозга, т. е. системы, которые опосредуют и стресс-индуцированное потребление алкоголя, можно было предполагать, что спокойные и агрессивные крысы будут отличаться по эффекту этанола на поведение и его потреблению.

Целью данной работы было исследовать потребление и предпочтение этанола, а также его влияние на поведение у самцов крыс, селекционируемых в двух разных направлениях по отношению к человеку.

## Материалы и методы

### Животные

Эксперименты проводили на половозрелых самцах аутбредных серых крыс (*Rattus norvegicus*) 83-го поколения отбора, селекционированных на отсутствие (линия ручных) и усиление (линия агрессивных) агрессивности по отношению к человеку. В каждой экспериментальной

группе было по 10–12 особей. Животных содержали в металлических клетках ( $50 \times 33 \times 20$  см) в группах по четыре особи при естественном освещении и свободном доступе к воде и пище. До экспериментов самцов взвешивали и рассаживали по одному. Исследования проводили по схеме, применяемой для Wistar крыс, селекционированных по уровню тревожности (Henniger et al., 2002), и модифицированной для клеток, в которых содержались серые крысы, в виварии ИЦиГ СО РАН. Эксперименты были выполнены в соответствии с правилами проведения работ на экспериментальных животных (приложение к приказу Министерства здравоохранения № 267 от 19.06.2003).

### Тест приподнятого крестообразного лабиринта

Тестирование по поведению проводили с 14:00 до 18:00 местного времени. За 10 мин до тестирования самцам вводили внутривентриально 12 %-й раствор этанола (1 г/кг). Контрольным животным вводили физиологический раствор.

Для исследования эффекта алкоголя на поведение использовали тест приподнятого крестообразного лабиринта, который широко используется для анксиолитических и анксиогенных свойств препаратов (Rodgers, Cole, 1994). Лабиринт представляет собой крестообразную платформу, приподнятую над полом на 50 см. Он состоит из расположенных друг напротив друга двух открытых и двух закрытых рукавов размером  $50 \times 10$  см. Закрытые рукава окружены с трех сторон непрозрачными стенками высотой 40 см. На пересечении рукавов располагается центральная платформа размером  $10 \times 10$  см. В начале теста крысу помещали в центр лабиринта, носом к закрытому рукаву. В течение 5 мин определяли параметры теста: латентные периоды захода в закрытые и выхода в открытые рукава; число заходов и время нахождения в открытых рукавах лабиринта; число заходов и время нахождения в закрытых рукавах лабиринта; число выходов в центр; время нахождения в центре лабиринта; число и время «выглядывания» (выход двумя лапами) в центр и в открытые рукава. Лабиринт после каждой крысы тщательно мыли и высушивали салфетками.

Поведение регистрировали на видеокамеру и в последующем обрабатывали с помощью программы, разработанной в лаборатории, которая позволяла оценить время каждого поведенческого паттерна (Плюснина и др., 2003).

### Определение потребления и предпочтения этанола в условиях свободного доступа (two bottle test)

Спустя пять дней после тестирования по поведению на каждую клетку подвешивали по две бутылки с водой и спиртом. Размеры клеток не позволяли одновременно подвешивать четыре бутылки (одну с водой и три бутылки с разной концентрацией этанола), как в исследовании на крысах Wistar (Henniger et al., 2002). Каждые один–два дня обе бутылки взвешивали и меняли местами. В течение первых пяти дней в бутылках был 2 %-й раствор, в следующие пять дней – 5 %-й и последние пять дней – 10 %-й раствор. Далее для регистрации эффекта депривации бутылки со спиртом убрали, а через семь дней их вновь ставили с 10 %-м спиртом и продолжали взвешивать в течение двух дней. Потребление алкоголя считали в г/кг,

а предпочтение – в процентах от общего количества потребляемой жидкости.

Статистическую обработку данных проводили с помощью двухфакторного дисперсионного комплекса (ANOVA), в котором одним из факторов была линия крыс, а другим – влияние этанола, вводимого внутривентриально (для поведенческого теста), или его концентрация, дни предъявления и депривация (для эксперимента со свободным доступом к воде и спирту). Различия между группами определяли с помощью критерия Fisher post-hoc.

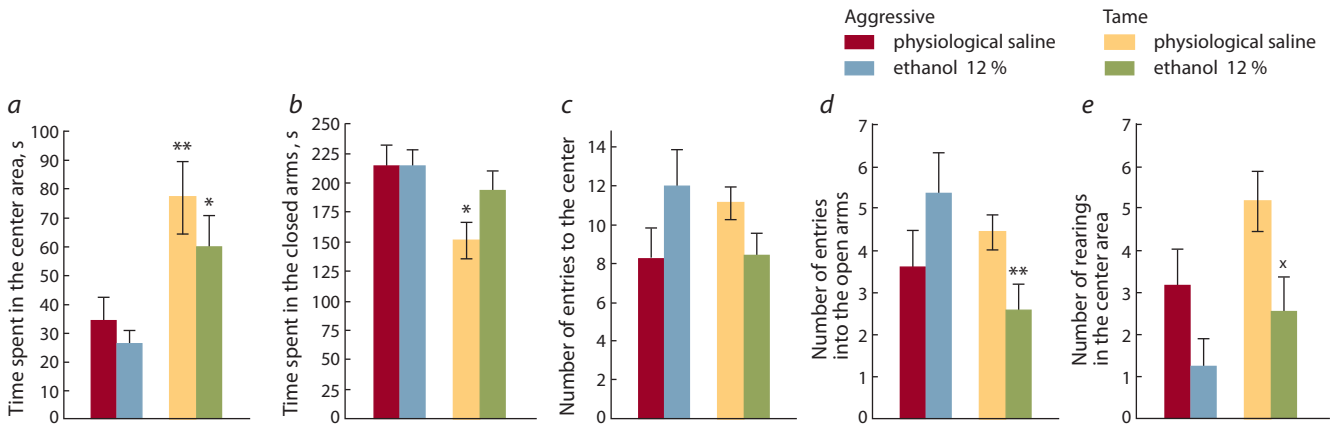
### Результаты

Влияние однократного введения этанола на тревожно-подобное поведение показано на рис. 1. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние генотипа на суммарное время, проведенное животными в центре ( $F_{1,38} = 15,65, p < 0,001$ ) и закрытых рукавах ( $F_{1,38} = 6,43, p < 0,05$ ), тогда как введение этанола не влияло на эти показатели ( $F_{1,38} = 1,74, p > 0,05$  и  $F_{1,38} = 1,60, p > 0,05$ ) соответственно (рис. 1, а, б). Взаимодействие этих факторов было недостоверно для суммарного времени, проведенного как в центре ( $F_{1,38} = 0,22, p > 0,05$ ), так и в закрытых рукавах ( $F_{1,38} = 1,52, p > 0,05$ ). Ручные самцы из контрольной группы меньше времени проводят в закрытых рукавах, чем агрессивные ( $p < 0,05$ ), тогда как после внутривентриального введения этанола эти различия сглаживаются (рис. 1, б).

Факторы генотипа и введения этанола не влияли на число выходов в центр ( $F_{1,38} = 0,07, p > 0,05$  и  $F_{1,38} = 0,12, p > 0,05$ ) соответственно (рис. 1, в), тогда как взаимодействие этих факторов было достоверно ( $F_{1,38} = 4,86, p < 0,05$ ). Эти факторы также не влияли на число выходов в открытые рукава ( $F_{1,38} = 1,58, p > 0,05$  и  $F_{1,38} = 0,004, p > 0,05$ ) соответственно (рис. 1, г), а взаимодействие факторов было достоверно ( $F_{1,38} = 5,53, p < 0,05$ ). Число выходов в открытые рукава у агрессивных и ручных самцов в контрольной группе не отличалось, а после введения этанола ручные крысы реже выходили в открытые рукава, чем агрессивные ( $p < 0,05$ ), (рис. 1, г).

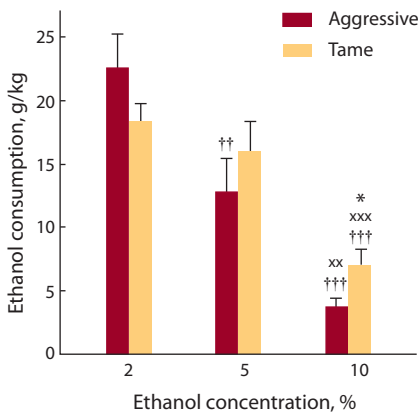
Обнаружено влияние генотипа и введения этанола на число вертикальных стоек в центре  $F_{1,38} = 4,64, p < 0,05$  и  $F_{1,38} = 8,70, p < 0,01$  соответственно (рис. 1, д), взаимодействие этих факторов было недостоверно  $F_{1,38} = 0,21, p > 0,05$ . У самцов обоих генотипов после введения этанола отмечали уменьшение этого параметра по сравнению с контролем, которое достигало уровня значимости у ручных крыс ( $p < 0,05$ ) и было на грани достоверности ( $p = 0,08$ ) у агрессивных.

На рис. 2 представлены результаты по потреблению этанола различной концентрации в среднем за один день в условиях свободного выбора спирта и воды. Двухфакторный дисперсионный анализ не выявил влияния генотипа на этот параметр ( $F_{1,66} = 0,27, p > 0,05$ ), тогда как фактор концентрации этанола достоверно влиял на его потребление ( $F_{2,66} = 31,11, p < 0,001$ ). Взаимодействие этих факторов было недостоверно ( $F_{2,66} = 2,51, p > 0,05$ ). Потребление 2 % и 5 %-го растворов этанола не отличалось у крыс с разным поведением, тогда как потребление 10 %-го этанола у ручных крыс было выше, чем у агрессивных.



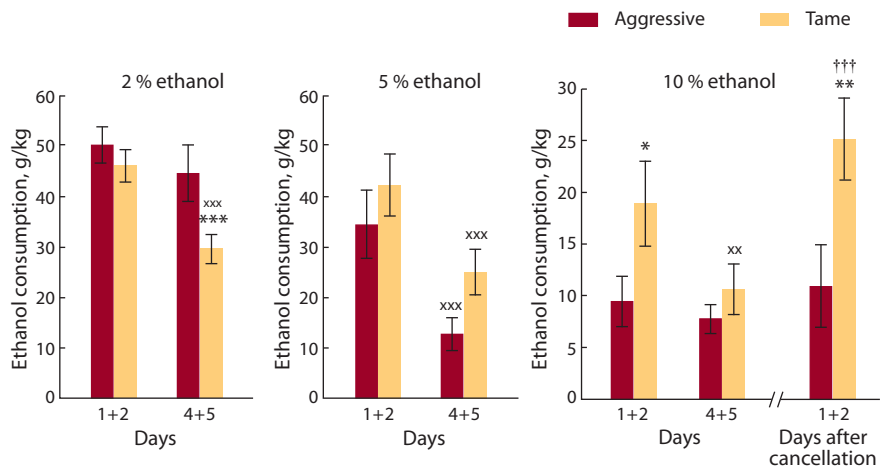
**Fig. 1.** Effect of ethanol on the behavior in the elevated plus maze.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ , compared to the corresponding groups of aggressive males; <sup>x</sup> $p < 0.05$ , compared to control animals treated with physiological saline.



**Fig. 2.** Consumption of different ethanol concentrations within five days of presentation (daily average).

\* $p < 0.05$ , compared to aggressive; ††† $p < 0.001$ ; †† $p < 0.01$ , compared to 2% ethanol in the corresponding group; xxx $p < 0.001$ ; xx $p < 0.01$ , compared to 5% ethanol in the corresponding group.



**Fig. 3.** Ethanol consumption within the first two days, within days 4 and 5 of its presentation, and within the first two days after 7-day cancellation.

\*\*\* $p < 0.001$ ; \* $p < 0.05$ , compared to the aggressive group in the corresponding days; xxx $p < 0.001$ ; xx $p < 0.01$ , compared to the first two days in the corresponding group; ††† $p < 0.001$ , compared to the 4–5 days in the corresponding group.

На рис. 3 представлены данные по потреблению этанола с разной концентрацией в первые два дня и на 4-й–5-й дни предъявления, а также за два дня после семидневной отмены. На потребление 2%-го этанола влияли как генотип ( $F_{1,20} = 11,53$ ,  $p < 0,01$ ), так и дни его предъявления ( $F_{1,20} = 10,12$ ,  $p < 0,01$ ), взаимодействие этих факторов было достоверно ( $F_{1,20} = 15,46$ ,  $p < 0,001$ ). На потребление 5%-го этанола генотип не влиял ( $F_{1,22} = 1,93$ ,  $p > 0,05$ ), но влияли дни предъявления ( $F_{1,22} = 37,74$ ,  $p < 0,001$ ), а взаимодействие этих

факторов было незначительно ( $F_{1,22} = 0,53$ ,  $p > 0,05$ ). Аналогично генотип не влиял на потребление 10%-го этанола ( $F_{1,21} = 3,93$ ,  $p > 0,05$ ), но влияли дни предъявления ( $F_{1,22} = 37,74$ ,  $p < 0,001$ ), взаимодействие этих факторов было также незначительно ( $F_{1,22} = 0,53$ ,  $p > 0,05$ ).

Кроме того, обнаружено влияние факторов генотипа ( $F_{1,44} = 7,40$ ,  $p < 0,01$ ) и депривации ( $F_{1,44} = 7,96$ ,  $p < 0,01$ ) на потребление 10%-го этанола, тогда как взаимодействие этих факторов было незначительно ( $F_{1,44} = 3,30$ ,  $p > 0,05$ ).

У ручных крыс потребление 2%-го этанола на 4-й–5-й дни предъявления снижалось по сравнению с первыми днями и становилось меньше, чем у агрессивных (рис. 3). Потребление 5%-го этанола на 4-й–5-й дни предъявления снижалось как у ручных, так и агрессивных крыс, по сравнению с первыми днями. Ручные крысы достоверно превосходили агрессивных по потреблению 10%-го этанола в первые дни предъявления ( $p < 0,05$ ), на 4-й–5-й дни предъявления потребление этанола у них снижалось ( $p < 0,01$ ), а у агрессивных существенно не изменялось. В первые два дня после 7-дневной отмены

потребление 10 %-го этанола у ручных крыс повышалось по сравнению с потреблением на 4-й–5-й дни до отмены ( $p < 0,001$ ), тогда как у агрессивных существенно не изменялось. Потребление 10 %-го этанола после отмены у ручных крыс, как и в первые дни предъявления, оставалось повышенным по сравнению с агрессивными ( $p < 0,01$ ).

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил достоверное влияние генотипа и концентрации этанола на его предпочтение ( $F_{1,66} = 12,48, p < 0,001$ ) и ( $F_{2,66} = 35,51, p < 0,001$ ) соответственно (рис. 4). Взаимодействие факторов было недостоверно ( $F_{2,66} = 1,22, p > 0,05$ ). У агрессивных крыс по мере повышения концентрации этанола предпочтение к нему достоверно понижается, тогда как у ручных этот показатель не отличается для 2 %-го и 5 %-го растворов, и уменьшается только для 10 %-го этанола. Предпочтение к 2 %-му раствору у ручных и агрессивных крыс не отличается, тогда как предпочтение к 5 %-му раствору у ручных крыс выше, чем у агрессивных ( $p > 0,01$ ), такая же тенденция отмечается и по предпочтению к 10 %-му раствору ( $p = 0,06$ ).

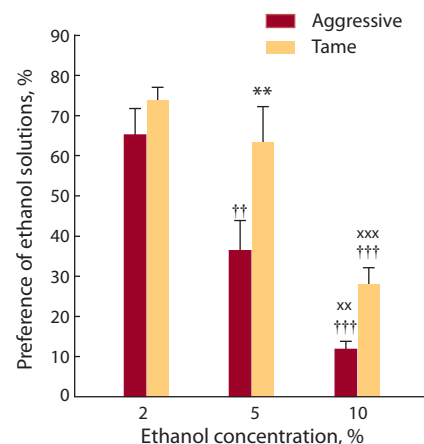
## Обсуждение

При сравнении результатов по предпочтению этанола разной концентрации можно отметить, что у ручных и агрессивных крыс максимальный уровень приходится на 2 %-й раствор (рис. 4). Эти результаты согласуются с данными других авторов о предпочтении крысами раствора алкоголя с концентрацией менее 6 % (Meisch, Lemaire, 1993) или 5 %-го раствора по сравнению с 10 %-м и 20 %-м растворами (Henniger et al., 2002). Предпочтение к 2 %-му раствору у ручных и агрессивных крыс не отличается, тогда как предпочтение к 5 %-му раствору у ручных крыс выше, чем у агрессивных. У агрессивных крыс предпочтение раствора этанола обратно пропорционально его концентрации, а у ручных – достоверно снижается на 10 %-м растворе этанола.

Среднее потребление этанола за день так же, как и его предпочтение, у агрессивных крыс достоверно уменьшается по мере повышения концентрации (см. рис. 2, 4), в то время как у ручных крыс потребление 2 %-го и 5 %-го растворов существенно не отличается, а 10 %-го раствора становится меньше, чем растворов с более низкими концентрациями. На основании этих данных по предпочтению и потреблению этанола разной концентрации можно предполагать, что агрессивные крысы более чувствительны к изменению концентрации этанола от 2 до 5 %, чем ручные.

Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о повышенном потреблении 2 %-го этанола агрессивными крысами на 4-й–5-й дни предъявления по сравнению с ручными животными (см. рис. 3). Ранее было показано, что для агрессивных крыс характерна повышенная тревожность, судя по поведению в светло-темной камере и амплитуде вздрагивания (startle-response) (Albert et al., 2008). Согласно гипотезе о снятии напряжения, индивидуумы с повышенной тревожностью могут быть более чувствительны к анксиолитическому действию алкоголя и, возможно, поэтому более предрасположены к его потреблению (Conger, 1956). Поэтому можно предполагать, что анксиолитический эффект этанола в большей степени проявляется у агрессивных крыс и поэтому его потребление у них больше, чем у ручных. Однако это предположение можно отнести только к 2 %-му раствору этанола, поскольку результаты потребления спирта с более высокими концентрациями его не подтверждают. Так, у агрессивных крыс наблюдали пониженное предпочтение к 5 %-му раствору и потребление 10 %-го раствора этанола в первые два дня предъявления и в среднем за один день, а также после семидневной отмены по сравнению с ручными самцами. Причем у последних отмечали эффект депривации, так как потребление 10 %-го этанола после отмены становилось больше, чем до отмены.

Эти результаты согласуются с данными о большем потреблении этанола крысами, селекционированными на пониженную (LAB) тревожность в тесте приподнятого крестообразного лабиринта по сравнению с животными контрастной линии (HAB) (Henniger et al., 2002). Выше уже упоминалось, что ручные крысы проявляют меньшую тревожность, чем агрессивные (Albert et al., 2008). Однако, в отличие от ручных крыс, у самцов с понижен-



**Fig. 4.** Preference of ethanol solutions with different concentrations presented for five days (percentage of the total amount of consumed liquid).

\*\* $p < 0,01$ , compared to the respective aggressive group; ††† $p < 0,001$ ; †† $p < 0,01$ , compared to 2% ethanol in the corresponding group; xxx $p < 0,001$ ; xx $p < 0,01$ , compared to 5% ethanol in the corresponding group.

ной тревожностью (LAB) отмечают повышенную межсамцовую агрессию в тесте «резидент – интродер» по сравнению с самцами контрастной линии (Veenema, Neumann et al., 2007). Кроме того, схема нашего эксперимента отличалась от схемы на крысах линий HAB и LAB. Если в нашем эксперименте крысы имели доступ к двум бутылкам с водой и спиртом разной концентрации (2, 5 и 10 %), то в исследовании на HAB и LAB крысах доступ был одновременно к четырем бутылкам с водой и спиртом 5, 10 и 20 % (Henniger et al., 2002). Несмотря на различия между схемами экспериментов и моделями крыс, селекционируемых по реакции на человека и уровню тревожности, результаты свидетельствуют о повышенном потреблении алкоголя у самцов с пониженной тревожностью по сравнению с животными соответствующих контрастных линий. Полученные нами данные подтверждают точку зрения других авторов о том, что положительная связь между тревожностью и потреблением спирта в условиях домашней клетки отмечается только с низкими его концентрациями (2–4 %), и сами эти условия не способствуют тревожно-подобному поведению (Henniger et al., 2002).

Как у менее тревожных (LAB), так и ручных крыс понижена реакция ГГНС на несоциальный стресс по сравнению с соответствующими контрастными линиями (Veenema, Neumann et al., 2007; Оськина и др., 2008). Базальные уровни дофамина в прилежащем ядре (NAcc) не отличались у крыс с пониженной тревожностью (LAB) и неселекционированных, тогда как после теста «резидент–интродер» уровень дофамина у первых становился выше, чем у последних (Beiderbeck et al., 2012). Среди девяти исследуемых районов мозга у крыс, селекционированных по реакции на человека, только в NAcc найдены различия по уровню дофамина, который у ручных был выше, чем у агрессивных (Albert et al., 2008). В связи с этими данными можно предполагать, что в процессе отбора крыс на ручное поведение формируются определенные взаимосвязи между ГГНС и дофаминергической системой мезолимбических структур мозга, которые способствуют повышенному потреблению и предпочтению этанола (с концентрацией более 5 %) по сравнению с агрессивными животными.

При тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте ручные самцы из контрольной группы меньше времени проводят в закрытых рукавах, чем агрессивные, тогда как после внутрибрюшинного введения этанола эти различия сглаживаются. По числу выходов в открытые рукава, наоборот, в контрольной группе достоверных различий нет, а после введения этанола ручные крысы реже выходят в открытые рукава, чем агрессивные. В результате сопоставления этих результатов у крыс разного поведения можно косвенно судить о повышении тревожности у ручных крыс под влиянием введения этанола, тогда как прямым свидетельством этого является достоверное уменьшение числа вертикальных стоек в центре у ручных крыс после введения этанола по сравнению с контролем. Следовательно, 12 %-й этанол не только не оказывает анксиолитического действия у ручных крыс, но и вызывает усиление тревожно-подобного поведения. В связи с этим серые крысы с ручным поведением могут служить моделью для исследования алкоголь-индуцированного повышения тревожности. Можно предполагать, что такая реакция у ручных крыс, вызванная этанолом, способствует его дальнейшему потреблению.

Среди генов, отличающихся по структуре у серых крыс, селекционированных на ручное и агрессивное поведение, наши коллеги из Германии, в частности, отметили ген *ANKK1* (ankyrin repeat and kinase domain containing 1). Мутации в этом гене были найдены только у ручных крыс и не встречались у агрессивных и неселекционированных. Ген *ANKK1* тесно сцеплен с геном рецептора дофамина (*DRD2*) и экспрессируется в астроцитах, а *ANKK1* белок относят к семейству киназ, участвующих в сигнальной трансдукции (Neville et al., 2004). Апоморфин, действующий как агонист дофаминовых рецепторов, активирует экспрессию гена *ANKK1* в культуре мышечных астроцитов, что свидетельствует о его возможной связи с дофаминергической системой (Hoenicka et al., 2010). У человека полиморфизм, известный как Taq 1A, в гене *ANKK1* (или *DRD2*, как ранее считали) активно исследуют в связи с аддиктивным, антисоциальным поведением (Hoenicka et al., 2010; Lu et al., 2012) и связывают с такими по-

веденческими особенностями, как склонность к поиску новизны (novelty seeking) и избеганию опасности (harm avoidance) (Berman et al., 2002). Кроме того, показано, что Taq 1A полиморфизм модулирует плотность и связывающую способность рецепторов *DRD2* (Ariza et al., 2012). Как уже отмечено выше, при отборе крыс на ручное поведение изменяются уровень дофамина, а также плотность и связывающая способность рецепторов дофамина в мезолимбической системе мозга по сравнению с неселекционированными животными (Nikulina et al., 1992). По данным исследователей из Лейпцига, уровень дофамина в прилежащем ядре у ручных крыс выше, чем у агрессивных (Albert et al., 2008). Возможно, структурные изменения в гене *ANKK1*, найденные у ручных крыс, влияют на экспрессию гена дофаминовых рецепторов *DRD2*, что и приводит к повышенному предпочтению и потреблению раствора этанола с концентрацией более 5 %.

Таким образом, различия в потреблении этанола между ручными и агрессивными крысами меняются в зависимости от концентрации раствора. Агрессивные самцы пьют больше, чем ручные, только 2 %-й раствор, и поэтому гипотеза о снятии напряжения подтверждается лишь для этой концентрации.

## Acknowledgments

This study was supported by the federal budget, State Project no. 0324-2015-0004 and done in cooperation with the Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany.

## Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Albert F.W., Shchepina O., Winter C., Römpler H., Teupser D., Palme R., Ceglarek U., Kratzsch J., Sohr R., Trut L.N., Thierry J., Morgenstern R., Plyusnina I.Z., Schöneberg T., Pääbo S. Phenotypic differences in behavior, physiology and neurochemistry between rats selected for tameness and for defensive aggression towards humans. *Horm. Behav.* 2008;53:413-421. DOI 10.1016/j.yhbeh.2007.11.010
- Ariza M., Garolera M., Jurado M.A., Garcia-Garcia I., Hernan I., Sanchez-Garre C., Vernet-Vernet M., Sender-Palacios M.J., Marques-Iturria I., Pueyo R., Segura B., Narberhaus A. Dopamine genes (*DRD2/ANKK1-TaqA1* and *DRD4-7R*) and executive function: their interaction with obesity. *PLoS One.* 2012;7(7):e41482. DOI 10.1371/journal.pone.0041482
- Beiderbeck D.I., Reber S.O., Havasi A., Bredewold R., Veenema A.H., Neumann I.D. High and abnormal forms of aggression in rats with extremes in trait anxiety – involvement of the dopamine system in the nucleus accumbens. *Psychoneuroendocrinology.* 2012;37(12):1969-1980. DOI 10.1016/j.psyneuen.2012.04.011
- Berman S., Ozkaragoz T., Young R. McD., Noble E. D2 dopamine receptor gene polymorphism discriminates two kinds of novelty seeking. *Pers. Individ. Differ.* 2002;33(6):867-882. DOI 10.1016/S0191-8869(01)00197-0
- Blum K., Oskar-Bermann M. Genetic addiction risk score (GARS): molecular neurogenetic evidence for predisposition to reward deficiency syndrome (RDS). *Mol. Neurobiol.* 2014;50:765-796. DOI 10.1007/s12035-014-8726-5
- Colombo G., Agabio R., Lobina C., Reali R., Zocchi A., Fadda F., Gesa G.L. Sardinian alcohol-preferring rats: a genetic animal model of anxiety. *Physiol. Behav.* 1995;57:1181-1185. DOI 10.1016/0031-9384(94)00382-F

- Comings D.E., Blum K. Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Prog. Brain Res.* 2000;126:325-341. DOI 10.1016/S0079-6123(00)26022-6
- Conger J.J. Alcoholism: theory, problem and challenge. *Quart J. Stud. Alcohol.* 1956;17(2):296-305.
- De Wit H., Söderpalm A.H.V., Nikolayev L., Young L. Effects of acute social stress on alcohol consumption in healthy subjects. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2003;27:1270-1277. DOI 10.1097/01.ALC.0000081617.37539.D6
- Gulevich R.G., Shikhevich S.G., Konoshenko M.Y., Kozhemyakina R.V., Herbeck Y.E., Prasolova L.A., Oskina I.N., Plyusnina I.Z. The influence of social environment in early life on the behavior, stress response, and reproductive system of adult male Norway rats selected for different attitudes to humans. *Physiol. Behav.* 2015; 15(144):116-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.018>
- Henniger M.S., Spanagel R., Wigger A., Landgraf R., Höfler S.M. Alcohol self-administration in two rat lines selectively bred for extremes in anxiety-related behavior. *Neuropsychopharmacology.* 2002;26(6):729-736.
- Hoernicka J., Quiñones-Lombraña A., España-Serrano L., Alvira-Botero X., Kremer L., Pérez-González R., Rodríguez-Jiméne R., Jiménez-Arriero M., Ponce G., Palomo T. The *ANKK1* gene associated with addictions is expressed in astroglial cells and upregulated by apomorphine. *Biol. Psychiat.* 2010;67(1):3-11. DOI 10.1016/j.biopsych.2009.08.012
- Kudryavtseva N., Gerrits M.A., Avgustinovich D.F., Tenditnik M.V., Van Ree J.M. Anxiety and ethanol consumption in victorious and defeated mice; effect of kappa-opioid receptor activation. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2006;16(7):504-511. DOI 10.1016/j.euroneuro.2006.01.002
- Lu R.B., Lee J.F., Huang S.Y., Lee S.Y., Chang Y.H., Kuo P.H., Chen S.L., Chen S.H., Chu C.H., Lin W.W., Wu P.L., Ko H.C. Interaction between *ALDH2\*1\*1* and *DRD2/ANKK1 TaqI A1A1* genes may be associated with antisocial personality disorder not co-morbid with alcoholism. *Addict. Biol.* 2012;17(5):865-874. DOI 10.1111/j.1369-1600.2010.00268.x
- Meisch R.A., Lemaire G.A. Drug Self-administration. Ed. F. van Harren. *Methods in Behavioral Pharmacology.* Amsterdam: Elsevier, 1993;257-300.
- Möller C., Wiklund L., Thorsell A., Hyytiä P., Heilig M. Decreased measures of experimental anxiety in rats bred for high alcohol preference. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 1997;21:656-660. DOI 10.1111/j.1530-0277.1997.tb03818.x
- Naumenko E.V., Popova N.K., Nikulina E.M., Dygalo N.N., Shishkina G.T., Borodin P.M., Markel A.L. Behavior, adrenocortical activity, and brain monoamines in Norway rats selected for reduced aggressiveness towards man. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1989;33: 85-91.
- Neville M.J., Johnstone E.C., Walton R.T. Identification and characterization of *ANKK1*: a novel kinase gene closely linked to *DRD2* on chromosome band 11q23.1. *Hum. Mutat.* 2004;23:540-545. DOI 10.1002/humu.20039
- Nikulina E.M., Avgustinovich D.F., Popova N.K. Neural control of predatory aggression in wild and domesticated animals. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1992;18(1):65-72.
- Oskina I.N., Herbeck Yu.E., Shikhevich S.G., Plyusnina I.Z., Gulevich R.G. Alterations in the hypothalamus-pituitary-adrenal and immune systems during selection of animals for tame behavior. *Informatsionny Vestnik VOGiS=The Herald of Vavilov Society for Geneticists and Breeding Scientists.* 2008;12(1/2):39-49.
- Plyusnina I., Oskina I. Behavioral and adrenocortical responses to open-field test in rats selected for reduced aggressiveness toward humans. *Physiol. Behav.* 1997;61(3):381-385.
- Plyusnina I.Z., Solov'eva M.Y., Oskina I.N. Effect of domestication on aggression in gray Norway rats. *Behav. Genet.* 2011;41(4):583-592. DOI 10.1007/s10519-010-9429-y
- Plyusnina I.Z., Trut L.N., Karpushkeeva N.I., Alekhina T.A., Oskina I.N. Some behavioral and physiological features of the nonagouti mutation in Norway rats selected for aggressive behavior. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatelnosti im. I.P. Pavlova=I.P. Pavlov Journal of Higher Nervous Activity.* 2003;53(6):730-738.
- Rodgers R.J., Cole J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology. *Ethology and Psychopharmacology.* Eds S.J. Cooper, C.A. Hendrie. Chichester: John Wiley and Sons Ltd., 1994;9-44.
- Spanagel R., Noori H.R., Heilig M. Stress and alcohol interactions: animal studies and clinical significance. *Trends Neurosci.* 2014;37(4): 219-227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.006>
- Stewart R.B., Gatto G.J., Lumeng L., Li T.-K., Murphy J.M. Comparison of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) rats on tests of anxiety and for the anxiolytic effects of ethanol. *Alcohol.* 1993;10: 1-10. DOI 10.1016/0741-8329(93)90046-Q
- Thomas S.E., Bacon A.K., Randall P.K., Brady K.T., See R.E. An acute psychosocial stressor increases drinking in non-treatment-seeking alcoholics. *Psychopharmacology.* 2011;218:19-28. DOI 10.1007/s00213-010-2163-6
- Veenema A.H., Neumann I.D. Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines. *Brain Behav. Evol.* 2007;70:274-285. DOI 10.1159/000105491