

Влияние длительного потребления этанола и кофеина на предпочтение алкоголя и поведение крыс-самцов

КУЧЕР Е.О.^{1,2}

к.м.н., научный сотрудник

ЕГОРОВ А.Ю.^{1,2}

д.м.н., проф., зав. лабораторией нейрофизиологии и патологии поведения; e-mail: draegorov@mail.ru

ФИЛАТОВА Е.В.¹

к.б.н., ст. научный сотрудник

КУЛАГИНА К.О.¹

мл. научный сотрудник

¹ — Учреждение Российской Академии Наук Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, 194223, Санкт-Петербург, пр. М. Тореца, д. 44, факс: +7(812) 552 3012

² — Санкт-Петербургский государственный университет, медицинский факультет

Ранее нами было показано [2], что у крыс-самок линии Wistar отмечается увеличение предпочтения раствора этилового спирта по сравнению с контролем, причём оно наибольшее у крыс, получавших этанол с кофеином, меньше — у получавших только этанол и ещё меньшее — у получавших только кофеин. Целью настоящего исследования было изучение сочетанного действия этанола и кофеина на формирование предпочтения алкоголя и поведение у крыс-самцов в условиях длительного эксперимента. В результате исследования было получено, что крысы-самцы всех экспериментальных групп обнаруживают увеличение предпочтения раствора этилового спирта по сравнению с контролем. Потребление кофеина с этанолом приводит к тому, что предпочтение этанола у этих крыс формируется раньше, чем у крыс, получавших только этанол. У животных, получавших только кофеин, в дальнейшем не формируется предпочтение алкоголя. У крыс, получавших кофеин и кофеин со спиртом, увеличивается поведенческая активность по сравнению с животными, получавшими этиловый спирт, и контрольными. Это полностью коррелирует с ранее полученными данными на крысах-самках.

Ключевые слова: этанол, кофеин, двухстаканная проба, поведенческая активность

Введение

Рост злоупотребления ненаркотическими психоактивными веществами, расширение спектра используемых психоактивных веществ и рост потребления слабоградусной алкогольной продукции [3] делает актуальной проблему изучения напитков, включающих в свой состав алкоголь и кофеин. По мнению некоторых авторов, безопасность данных напитков нуждается в исследовании, так как в их состав входят биологически активные вещества, в том числе и кофеин, механизм взаимодействия которых с этанолом недостаточно изучен [6].

Для кофеина показано, что при однократном употреблении он проявляет антагонизм с эффектами этанола, компенсируя когнитивные нарушения и седативный эффект, вызванный приёмом алкоголя [8, 9]. По данным некоторых социологических исследований, известно, что предпочитающие энергетические напитки студенты хуже оценивают степень своего алкогольного опьянения и как следствие выпивают больше, чем их товарищи, потребляющие напитки, содержащие только алкоголь. В условиях эксперимента было показано как увеличение, так и снижение потребления этанола у крыс, получавших кофеин при однократном введении [7, 12]. Ранее нами было показано, что у крыс самок линии Вистар отмечается увеличение предпочтения раствора этилового спирта

по сравнению с контролем, причём оно наибольшее у крыс, получавших этанол с кофеином, меньше — у получавших только этанол и ещё меньшее — у получавших только кофеин [13].

Целью настоящего исследования было изучение сочетанного действия этанола и кофеина на формирование предпочтения алкоголя и поведение у крыс-самцов в условиях длительного эксперимента.

Материалы и методы

Работа выполнена на 30 взрослых крысах-самках линии Wistar. Животные содержались на стандартном рационе. Крысы были разделены на 4 группы. В течение 9 мес. эксперимента первая группа имела доступ только к раствору, содержащему 10% этилового спирта и 0,4 г/л кофеина; вторая группа — только к 10%-ному раствору спирта; третья — к раствору, содержащему 0,4 г/л кофеина; четвёртая (контрольная) — только к воде. До начала опыта и каждый последующий месяц исследовали предпочтение этанола в тесте «двухстаканная проба» после питьевой депривации в течение 24 ч. Для этого каждое животное помещали в индивидуальную клетку с двумя поилками, одна из которых содержала воду, другая — 10%-ный раствор спирта. Оценивали количество выпитой жидкости из каждой поилки в течение 15 мин.

Поведение животных до начала и каждый месяц эксперимента оценивали в тесте «открытое поле». Регистрировали 5 параметров: латентный период выхода со стартового квадрата, количество пересечённых квадратов, количество стоек, груминг, болюсы и уринации в течение 5 мин. Через 6 мес. эксперимента оценивали уровень тревоги и поведенческую активность в «Суок-тесте» [1]. «Суок-тест» представляет собой аллею шириной 5 см, приподнятую над полом на высоту 50 см и разграниченную на равные сегменты. Крысу помещают на аллею и в течение 5 мин регистрируют количество пересечённых сегментов, стоек, заглядываний вниз, ориентаций в пространстве, латентный период выхода из стартового квадрата, а также количество соскальзываний лап, падений, уринаций и дефекаций. Снижение показателей, характеризующих двигательную и исследовательскую активность (пересечения, стойки, заглядывания, ориентации), и увеличение количества соскальзываний, падений, уринаций и дефекаций говорит об увеличении уровня тревоги у животных.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента, достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Работа выполнена в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике и с соблюдением международных стандартов GLP («Good Laboratory Practice» — Надлежащая лабораторная практика).

Результаты и обсуждение

В тесте «двухстаканная проба» до начала и в первый месяц опыта потребление этанола животными было низким (рис. 1). Во второй месяц опыта увеличилось предпочтение этанола крысами, получавшими раствор этилового спирта и получавшими спирт с кофеином. На третий, четвёртый и пятый месяцы у животных всех групп, кроме контрольной, увеличивалось

предпочтение этанола. Правда, эти различия носили характер тенденции. На шестом и седьмом месяцах эксперимента крысы, получавшие кофеин со спиртом, потребляли больше этанола, чем животные других групп (на седьмом месяце эти различия носили достоверный характер по сравнению с группой, получавшей раствор этилового спирта). На восьмом и девятом месяцах у крыс, получавших этиловый спирт, увеличилось предпочтение потребления этанола, и на девятый месяц крысы, получавшие этиловый спирт и этиловый спирт с кофеином, достоверно больше предпочитали этанол, чем крысы, получавшие кофеин, и контрольные. Следует отметить факт увеличения потребления этанола контрольными животными на последних месяцах опыта, наблюдавшийся нами неоднократно и ранее в других опытах. Можно лишь предположить, что это каким-либо образом связано со старением крыс либо с изменением их поведения в знакомой среде.

В тесте «открытое поле» крысы самцы демонстрировали высокую поведенческую активность до начала эксперимента (рис. 2). В показатель поведенческой активности включали количество пересечённых квадратов и вертикальные стойки. В последующие месяцы эта активность снизилась, что, скорее всего, объясняется привыканием животных к условиям теста и снижением исследовательского интереса. На второй месяц эксперимента отмечали достоверное повышение активности у крыс, получавших кофеин по сравнению с контрольными животными. Крысы, получавшие кофеин со спиртом, были достоверно более активны, чем крысы других групп, на третьем и шестом месяцах опыта. В остальном различий по уровню поведенческой активности между группами не было.

В «Суок-тесте» через 6 мес. от начала эксперимента крысы, получавшие кофеин со спиртом, обнаружили более высокую поведенческую активность, чем живот-

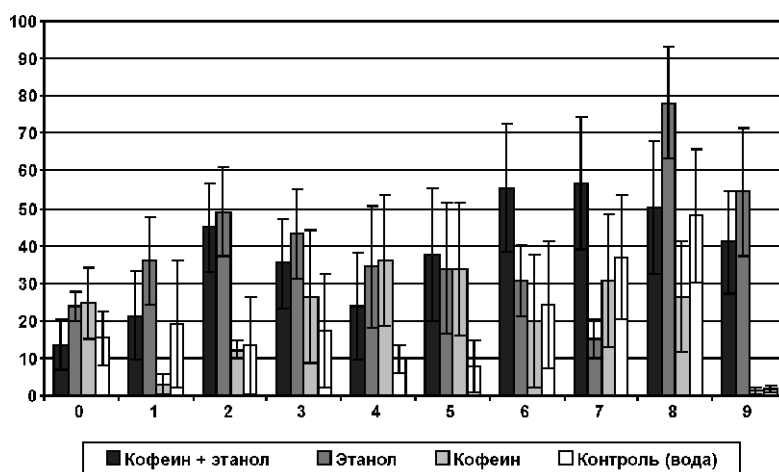


Рис. 1. Потребление раствора этилового спирта в тесте «двухстаканная проба» крысами-самцами.

По оси абсцисс — месяцы эксперимента; по оси ординат — доля этилового спирта по отношению к общему количеству выпитой жидкости, %

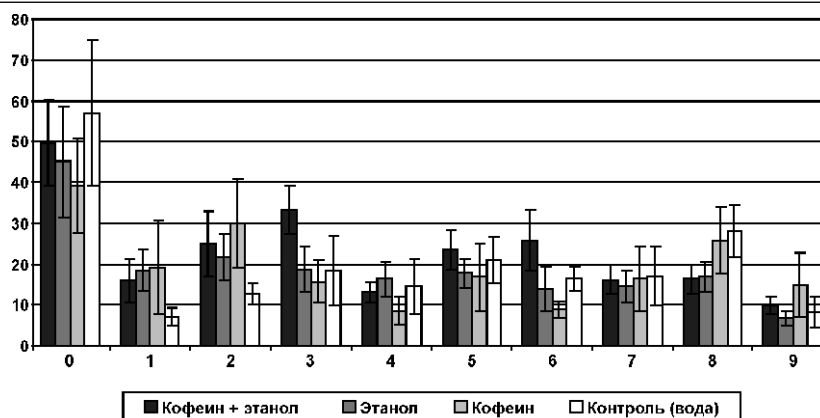


Рис. 2. Общая поведенческая активность в тесте «открытое поле» крыс-самцов.

По оси абсцисс — месяцы эксперимента;

по оси ординат — общая поведенческая активность (количество пересечённых квадратов и вертикальные стойки), акты

ные, получавшие спирт (рис. 3). Под поведенческой активностью в этом тесте понимали количество пересечённых крысами сегментов, число вертикальных стоек, ориентаций и заглядываний. Этот показатель является аналогом исследовательской активности в тесте «открытое поле», но в более стрессогенных условиях. Как тенденцию можно отметить повышение поведенческой активности у самцов, получавших кофеин по сравнению с крысами, получавшими спирт, при том, что поведенческая активность в «открытом поле» у этих же животных в тот же период времени была низкой. Уровень тревоги, включающий такие показатели, как соскальзывания лап, падения, уринации и дефекации, достоверно не различался у животных всех групп.

Результаты теста «двухстаканная проба» свидетельствуют о том, что оба психоактивных вещества, кофеин и этанол, как по отдельности, так и при их сочетании приводят к увеличению предпочтения этилового спирта через два месяца от начала опыта. Известно, что при однократном введении кофеин влияет на предпочтение употребления этилового спирта, по данным одних авторов, увеличивает, а по данным

других, — снижает его. При хроническом употреблении происходит не только взаимовлияние эффектов этанола и кофеина, но и изменение действия каждого из этих веществ. Ранее нами было выявлено, что в результате шестимесячного потребления кофеина с этанолом, этанола и кофеина, по отдельности у самок крыс линии Wistar отмечается увеличение предпочтения раствора этилового спирта по сравнению с контролем в тесте «двухстаканная проба», причём оно было наибольшим у крыс, получавших этанол с кофеином, меньше — у получавших только этанол и ещё меньше — у получавших только кофеин [13].

Известно, что эффекты кофеина связаны с блокадой аденозиновых рецепторов, что влечёт за собой изменения в нейромедиаторных системах: дофаминовой, серотониновой, норадреналиновой и ацетилхолиновой [10]. Ранее было показано, что острое введение алкоголя изменяет активность всех моноаминергических систем [5], а также что серотониновая и норадреналиновая системы играют модулирующую роль в развитии толерантности к этанолу [10]. Повышение уровня дофамина стимулирует потребление этанола, а повыше-

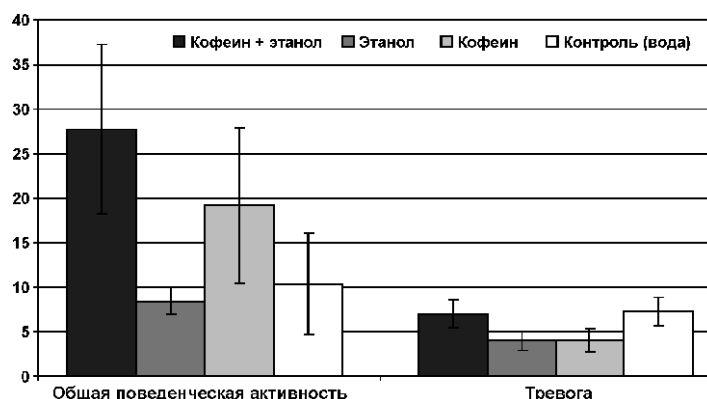


Рис. 3. Поведение крыс-самцов в «Суок-тесте» через 6 мес. от начала эксперимента.

По оси ординат — поведенческие акты

ние уровня серотонина — снижает [3]. Можно предположить, что опосредованные через моноаминэргические системы эффекты кофеина или этанола или их сочетания приводят к увеличению количества проб алкоголя у экспериментальных животных и отсутствию такового у контрольных животных.

У животных, получавших кофеин с этанолом, раньше происходит увеличение предпочтения алкоголя, чем у животных, получавших только этанол, в то время как у животных, получавших только кофеин, хоть и увеличивается вначале количество проб алкоголя, впоследствии не отмечено большее потребление этилового спирта, чем у контрольных животных. Возможно, в случае сочетанного применения происходит более быстрый рост толерантности и как следствие — увеличение предпочтения алкоголя.

Поведенческая активность в обоих тестах, несмотря на методические различия, увеличивается только у животных, получавших кофеин и кофеин со спиртом, причём у получавших кофеин со спиртом — в большей степени, в то время как животные, получавшие раствор этанола, не демонстрируют повышения активности.

Заключение

Таким образом, можно сделать следующие выводы:

- длительное потребление кофеина, этанола и их сочетания приводит к увеличению количества проб алкоголя по сравнению с контролем у всех животных;
- дальнейшее потребление кофеина с этанолом приводит к тому, что предпочтение этанола у этих крыс формируется раньше, чем у крыс, получавших только этанол. У животных, получавших только кофеин, в дальнейшем не формируется предпочтение алкоголя;
- у крыс, получавших кофеин и кофеин со спиртом, увеличивается поведенческая активность по сравнению с животными, получавшими этиловый спирт, и контрольными. В наибольшей степени увеличивается активность у животных, получавших кофеин со спиртом;
- уровень тревоги через 6 мес. употребления растворов кофеина, этанола и их сочетания одинаков у всех крыс-самцов и не отличается от такового у контрольных животных.

THE INFLUENCE OF LONG-TERM ETHANOL AND CAFFEINE CONSUMPTION ON THE ETHANOL PREFERENCE IN MALE RATS

KUTCHER E.O., EGOROV A.Y., FILATOVA E.V., KULAGINA K.O.

Earlier it was shown that the highest ethanol preference was observed in female rats drinking ethanol with caffeine, less in rats receiving ethanol, and even less in animals, receiving caffeine. The goal of the study was to examine the influence of combined effects of ethanol and caffeine on the alcohol preference formation and behavior in male rats in a long-term experiment. It was found that the preference of ethanol solution has increased in all experimental male rats compared to controls. The rats drinking caffeine with ethanol preferred alcohol in «two-bottle-test» earlier than ethanol drinking rats. The animals which got only caffeine have not shown the preference to alcohol in the end of the experiment. The behavioral activity was observed in rats getting caffeine and caffeine with alcohol. Probably the received behavioral effects has been associated with a complex mechanism of combined ethanol and caffeine action on the neurotransmitter systems.

Key words: ethanol, caffeine, behavioral activity, effects of combined consumption of ethanol and caffeine

Список литературы

1. Калуев А.В., Туохимаа П. Суок-тест — новая поведенческая модель тревоги // Нейронауки. — 2005. — №1 — С. 17—23.
2. Кучер Е.О., Егоров А.Ю., Филатова Е.В., Кулагина К.О. Сочетанное употребление кофеина и этанола увеличивает предпочтение алкоголя у самок крыс // Наркология. — 2010. — №12. — С. 37—40.
3. Фридман К.Б., Лукьянова Ю.А., Ларионова О.О. Аспекты алкоголизации населения Санкт-Петербурга по материалам санитарно-гигиенического мониторинга // Медицинская профилактика наркологических заболеваний: Сб. материалов научно-практической конференции. — СПб., 2003. — С. 12—14.
4. Шабанов П.Д. Наркология: Практическое руководство для врачей. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. — 560 с.
5. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. Биология алкоголизма. — СПб.: Лань, 1998. — 72 с.
6. Шевчук М.К., Петров А.Н., Георгианова Е.К., Кучер Е.О. Методология токсикологической оценки безопасности слабоградусной алкогольной продукции // Труды Института токсикологии, посвященные 75-летию со дня основания / Под ред. проф. С.П. Нечипоренко. — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2010. — С. 360—370.
7. Dietze M.A., Kulkosky P.J. Effects of caffeine and bombesin on ethanol and food intake // Life Sci. — 1991. — Vol. 48, №19. — P. 1837—1844.
8. Drake C.L., Roehrs T., Turner L., Scofield H.M., Roth T. Caffeine reversal of ethanol effects on the multiple sleep latency test, memory, and psychomotor performance // Neuropsychopharmacology. — 2003. — Vol. 28, №2. — P. 371—378.
9. Fillmore M.T. Alcohol tolerance in humans is enhanced by prior caffeine antagonism of alcohol-induced impairment // Exp. Clin. Psychopharmacol. — 2003. — Vol. 11, №1. — P. 9—17.
10. Fredholm B.B., Battig K., Holmen J., Nehlig A., Zvartau E.E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use // Pharmacological reviews. — 1999. — Vol. 51, №1. — P. 84—125.
11. Gordis E. Alcohol and health. 7th Spec. Rep. USA Congr. — Rockville. — 1990. — 289 p.
12. Kunin D., Gaskin S., Rogan F. et al. Caffeine promotes ethanol drinking in rats. Examination using a limited-access free choice paradigm // Alcohol. — 2000. — Vol. 21, №3. — P. 271—277.
13. Kutcher E.O., Egorov A.Y., Filatova E.V., Kulagina K.O., Guzhova O.V. The influence of chronic caffeine and ethanol consumption on alcohol motivation forming in female rats // 2010 International Society for Biomedical Research on Alcoholism World Congress September 13—16, 2010 Paris, France. — Alcoholism. — 2010. — Vol. 34, №8, Suppl.P150A.