

Znaczenie wyselekcjonowanych linii szczurów WHP i WLP w badaniach mechanizmu działania alkoholu

Importance of selected lines of WHP and WLP rats in studies on mechanism of ethanol effect

Wanda Dyr, Marta Ćwiek, Wojciech Kostowski

Instytut Psychiatrii i Neurologii
Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego, Warszawa

Abstract – Lines of rats WHP (Warsaw High Preferring) and WLP (Warsaw Low Preferring) have come from Wistar rats and differ in spontaneous drinking of alcohol and preference to alcohol. WHP rats drink excessive amounts of alcohol, whereas WLP rats drink only small amounts. At the increasing concentration of alcohol the total drinking of alcohol was enhanced in WHP rats, but not in WLP rats. Moreover, during chronic drinking in the free-choice condition (alcohol vs. water) WHP rats attain physiological active blood alcohol level and following withdrawal they show signs of withdrawal. Phenotypes of alcohol consumption in the WHP and WLP lines are stable and independent of the access to the ethanol solution. A neurochemical analysis demonstrates lower levels of dopamine and serotonin in some brain regions of the WHP rats than of WLP lines. To conclude, WHP rats meet the criteria of an animal model of alcoholism.

Key words: drinking and preference of alcohol, WHP and WLP lines of rats, animal model of alcoholism

Streszczenie – Linie szczurów Warsaw High Preferring (WHP) i Warsaw Low Preferring (WLP) zostały wyprowadzone ze szczurów szczepu Wistar w celu uzyskania zwierząt różniących się stopniem preferencji i ilością spontanicznie pitego alkoholu etylowego (etanolu). Szczury linii WHP piją dobrowolnie etanol w nadmiernych ilościach, podczas gdy szczury linii WLP spożywają tylko nieznaczne ilości. Przy ekspozycji na wzrastające stężenie etanolu ilość wypijanego alkoholu wzrasta u zwierząt linii WHP, podczas gdy pochodzące z linii WLP niezmiennie spożywały bardzo małe ilości etanolu. Przy przewlekłym picu alkoholu w warunkach wolnego wyboru (alkohol vs woda) szczury linii WHP osiągają fizjologicznie aktywny poziom alkoholu we krwi, a po odstawieniu alkoholu występują u nich oznaki zespołu abstynencyjnego. Fenotypy spożywania alkoholu w liniach WHP i WLP są utrwalone i niezależne od sposobu udostępniania roztworu alkoholu. Zwierzęta linii WHP mają mniejsze stężenie dopaminy i serotoniny w niektórych strukturach mózgu w porównaniu do linii WLP. Szczury linii WHP spełniają kryteria zwierzęcego modelu alkoholizmu.

Słowa kluczowe: picie i preferencja alkoholu, linie szczurów WHP i WLP, zwierzęcy model alkoholizmu

Artykuł jest zmodyfikowaną formą tekstu, który został opublikowany w języku angielskim: Dyr W, Kostowski W (2008) Warsaw High-Preferring (WHP) and Warsaw Low-Preferring (WLP) lines of rats selectively bred for high and low voluntary ethanol intake: preliminary phenotypic characterization. *Alcohol*, 42 (3), 161–170.

Wstęp

Do badania neurobiologicznych mechanizmów działania alkoholu etylowego (etanolu) powszechnie wykorzystuje się zwierzęta laboratoryjne. Od dawna wiadomo, że czynniki genetyczne mają wpływ na preferencje picia alkoholu u gryzoni laboratoryjnych. Jednym ze sposobów badania procesu uzależnienia od alkoholu jest uzyskanie w drodze selekcji zwierząt preferujących alkohol i unikających go. W różnych laboratoriach wyhodowano kilka linii zwierząt o naturalnej, nadmiernej preferencji oraz linii do nich przeciwstawnych, cechujących się niską preferencją lub nawet awersją do picia (1, 2, 3). Są to szczury linii AA (Alko, Accepting) oraz ANA (Alko, Non-Accepting) (4), linii P (Preferring) oraz NP (Nonpreferring) (5), HAD (High-alcohol-drinking) oraz LAD (Low-alcohol-drinking) (5, 6), sP (Sardinian Preferring) oraz sNP (Nonpreferring) (7, 8). Wszystkie te linie zostały uzyskane przy zastosowaniu podobnych kryteriów selekcji, tj. kojarzono samce i samice wykazujące podobne spożycie i preferencję dotyczącą etanolu (wysoką lub niską).

Podobne kryterium selekcji zastosowano 14 lat temu w Zakładzie Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego IPiN w celu wygenerowania szczurów preferujących alkohol i unikających alkoholu (9, 10). Linie Warsaw High Preferring (WHP) i Warsaw Low Preferring (WLP) wyprowadzono z albinotycznej grupy szczurów szczepu Wistar; obecnie osiągnęły one 40 pokolenie. Kojarzono samce i samice o wysokiej preferencji alkoholu w celu zapoczątkowania linii WHP, natomiast samce i samice o niewielkiej preferencji kojarzono, aby uzyskać linię WLP (10). Przy rozmnażaniu zwierząt przyjęto kojarzenie osobników posiadających wspólnych przodków dalej niż w trzecim pokoleniu wstecz. Dla każdego pokolenia zazwyczaj kojarzono 12–15 par. Młode po urodzeniu pozostawiano z matką przez 3 tygodnie. Po tym czasie osobniki tej samej płci z każdego miotu selekcjonowano i w oddzielnych klatkach pozwalano im dorosnąć przed rozpoczęciem procedury selekcji. Kryterium selekcji linii WHP i WLP była i jest preferencja alkoholu w teście wolnego wyboru pomiędzy dziesięcioprocentowym jego wodnym roztworem a wodą, przy czym przeciętne dzienne spożycie etanolu przez osobniki linii WHP przekracza 5 g czystego etanolu na kilogram masy ciała w ciągu doby, a preferencja alkoholu wynosi 80%. Szczury linii WLP spożywają mniej niż 2 g/kg/24 h czystego etanolu.

Spożycie etanolu w warunkach wolnego wyboru

Stopień preferencji alkoholu przez szczury określano w ciągu 4-tygodniowego eksperymentu. W pierwszym tygodniu zwierzęta przymuszano do picia 10% roztworu etanolu, pozbawiając je równocześnie dostępu do wody. Przez trzy kolejne tygodnie doświadczenia zwierzęta miały do wyboru dwie butelki, w jednej z nich znajdował się 10-procentowy roztwór alkoholu, a w drugiej – woda („dwubutelkowy test preferencji”). Przy czym, aby zapobiec rozwojowi preferencji miejs-

ca, codziennie zamieniano pozycje butelek. Pożywienie było dostępne *ad libitum* przez cały czas trwania eksperymentu. Kryterium, na którym oparto selekcję jest fenotyp picia dużych ilości alkoholu – wartość uśredniona w g/kg/24 h mierzona w czwartym tygodniu picia w warunkach wolnego wyboru. Wyselekcjonowanie linii WHP wśród samców nastąpiło szybko, bo już w pierwszym pokoleniu zaobserwowano różnicę w preferencji picia alkoholu, która wzrastała przez cztery kolejne pokolenia. W czwartym pokoleniu spożycie etanolu przez szczury linii WHP osiągnęło wartość 5,3 g/kg/24 h. Wartość ta jest porównywalna do wartości uzyskanych u szczurów linii P/NP i AA/ANA (5). Co więcej, szczury linii WHP, spożywające etanol w warunkach wolnego wyboru, po odstawieniu alkoholu prezentowały widoczne oznaki zależności fizycznej, takie jak wytrzeszcz oczu, piloerekcja, drżenie i sztywność mięśniowa (12). Po dootrzewnowym podaniu alkoholu w dawce 2 mg/kg szczury linii WHP uzyskują ponad dwukrotnie niższe stężenie alkoholu we krwi w porównaniu z linią WLP (16).

Stabilny fenotyp i spożycie alkoholu

Szczury linii P wykazują wysoką preferencję roztworów alkoholu o stężeniach powyżej 14% (5). Dla oceny stabilności picia alkoholu u szczurów WHP i WLP, w 22 i 23 pokoleniu wykonano doświadczenie, w którym badano wpływ różnych sposobów udostępniania alkoholu na ilość jego spożycia przez zwierzęta. Przez pierwszy tydzień szczury miały dostęp tylko do alkoholu (10% roztwór) oferowanego im w dwóch butelkach. W 3 kolejnych tygodniach jedna z butelek zawierała wodę, a druga 10% roztwór etanolu. W czwartym tygodniu mierzono spożycie czystego etanolu (g/kg/24 h) oraz jego preferencję (%). Następnie szczury obu linii powracały na miesiąc do swoich klatek hodowlanych z dostępem do wody i pożywienia *ad libitum*. Po miesiącu testowano stabilność zachowania związanego z piciem alkoholu w dwóch układach eksperymentalnych. W pierwszym z nich, szczury pochodzące z linii WHP i WLP miały nieograniczony dostęp do pożywienia, wody i 10-procentowego roztworu etanolu przez 9 kolejnych tygodni. W drugim, odrębnym doświadczeniu, początkowe (2%) stężenie roztworu etanolu było zwiększane o 1% co tydzień przez 9 kolejnych tygodni. Wyniki wskazują, że niezależnie od zastosowanej procedury udostępniania alkoholu, szczury linii WLP spożywają bardzo małe ilości etanolu, mniej niż 1 g/kg dziennie (16). Z kolei szczury linii WHP przy ekspozycji na wzrastające stężenia etanolu stopniowo zwiększały ilość spożywanego alkoholu (od ok. 1 g/kg do 6 g/kg dziennie). Co więcej, przy dostępie do 10% roztworu etanolu szczury linii WHP zachowały stały i bardzo wysoki poziom spożycia alkoholu (5–6 g/kg masy ciała dziennie) (16). Mimo zastrzeżeń do tych doświadczeń, wynikających z wykorzystania zwierząt z wcześniejszą historią alkoholową, uzyskane przez nas wyniki wydają się wskazywać, że ilość alkoholu spożywanego przez szczury linii WHP i WLP jest raczej stałym i niezmiennym wzorcem zachowania i nie może być łatwo zmieniona przez różne procedury udostępniania alkoholu.

Instrumentalne samopodawanie etanolu

Procedura instrumentalnego samopodawania etanolu jest uznana za wiarygodne narzędzie badawcze, służące do oceny wzmacniających właściwości alkoholu (17, 18, 19). Przy definiowaniu zwierzęcego modelu alkoholizmu uznano, że wysiłek włożony w zdobycie alkoholu jest ważnym kryterium, które powinno być spełnione przez taki model (20, 21).

Szczury 32 pokolenia linii WHP i WLP były badane w typowych testowych klatkach (Coulbourn Instrument, Allentown, PA, USA), wyposażonych w dwie dźwignie i system dostarczania płynów uruchamiany przez aktywną dźwignię (22). W czasie sesji eksperymentalnej właściwa reakcja szczura (naciśnięcie aktywnej dźwigni) była wzmacniana podaniem porcji etanolu (0,1 ml) przez 5 sekund. Po ustabilizowaniu się liczby naciśnień na dźwignię przy współczynniku wzmocnienia 1 (Fixed Ratio, FR1 – jedno naciśnięcie na dźwignię = 1 wzmocnienie w postaci porcji etanolu), samopodawanie etanolu było badane przy wyższym współczynniku wzmocnienia FR2 i FR3, co oznacza, że zwierzęta musiały nacisnąć aktywną dźwignię odpowiednio 2 i 3 razy więcej w celu otrzymania 1 porcji etanolu. Wszystkie sesje treningowe trwały 30 minut i codziennie była przeprowadzona 1 sesja.

Szczury linii WHP i WLP naciskały na aktywną dźwignię podobną liczbę razy w procedurze FR1 i FR2. Natomiast przy współczynniku wzmocnienia FR3 tylko szczury linii WHP wykazywały wysoką zdolność rozwijania i podtrzymywania reakcji instrumentalnej, związaną być może ze znacznie silniejszą motywacją do zdobywania etanolu, niż szczury linii WLP. Należy jednak zauważyć, że te ostatnie rozwijają zdolność do aktywnego samopodawania etanolu przy niższych (FR1 i FR2) wartościach współczynnika wzmocnienia, a zdolność ta wydaje się odróżniać naszą linię WLP od innych linii niepreferujących etanolu. I tak np. linia sNP nie rozwija i nie podtrzymuje aktywnego samopodawania etanolu, nawet w procedurze FR1 (23). Przyczyną występujących różnic w wynikach może być wykonywanie przez nas doświadczeń na szczurach „naiwnych” (które nie miały wcześniej kontaktu z alkoholem), podczas gdy inni autorzy udostępniali szczurom alkohol w klatkach domowych przez okres 14 dni (23).

Spożywanie słodkich roztworów

Wrażliwość na smak szczurów wyselekcjonowanych w kierunku wysokiego i niskiego spożycia i preferencji alkoholu była przedmiotem badań w wielu ośrodkach naukowych. Związek pomiędzy preferencją alkoholu i słodczy został wykazany na przykład u linii HAD/LAD, P/Np i sP/sNP (3, 24, 25). Przy jednoczesnym oferowaniu sacharyny, wody i alkoholu szczury linii P są w stanie pobierać dużą ilość alkoholu (5). Inaczej zachowują się szczury linii HAD czy sP – całkowita ilość spożywanego alkoholu spada przy dostępie do słodkiego roztworu (7).

W zgodzie z tymi ostatnimi obserwacjami pozostają wyniki naszych badań przeprowadzonych na liniach WHP i WLP. Aby ocenić spożycie słodkich substancji

szczury WHP i WLP z 17 pokolenia zostały poddane procedurze wolnego, 24-godzinnego wyboru pomiędzy wodą a roztworem cukru lub sacharyny. Pobieranie roztworów o wzrastającym stężeniu cukru (2,5%, 5%, 10%, 30%) w porównaniu do spożycia wody było mierzone w 4-dniowych etapach (między nimi 5-dniowe przerwy, bez dostępu do słodkich substancji). Stosując analogiczną procedurę wykonano analizy spożywania roztworów sacharyny o wzrastającym stężeniu (0,001%, 0,01%, 0,1%) u szczurów WHP i WLP.

Wyniki wskazują, że szczury WHP spożywały wyraźnie więcej 5%, 10% i 30% roztworu cukru niż WLP, przy czym najwyższą różnicę odnotowano w przypadku roztworu 30%. Szczury WHP spożywały także więcej 0,1% roztworu sacharyny niż WLP (13, 26). Konkurencyjna dostępność dziesięcioprocentowego roztworu cukru redukuje spożycie etanolu i wody o 80–90% (13, 26). Pod względem spożycia słodkich roztworów szczury wyselekcjonowane w kierunku wysokiej preferencji etanolu istotnie się różnią; wartość nagradzająca etanolu spada w obecności słodzonych napojów u zwierząt linii WHP, HAD i sP, podczas gdy nie zmienia się ilość pobranego etanolu u szczurów linii P (27).

Pobieranie pokarmu i płynów oraz masa ciała zwierząt

Pobieranie pokarmu przez szczury WHP jest nieco niższe w porównaniu do szczurów linii WLP. Na przykład, dzienne spożycie u szczurów WHP i WLP z 19 pokolenia wynosiło odpowiednio: 65,2±2,3 g/kg i 67,2±3,4 g/kg. Szczury WHP z 22 pokolenia spożywały 58,3±2,1 g/kg/24 h, podczas gdy WLP z tego samego pokolenia 64,3±2,2 g/kg/24 h (12). Całkowita ilość pobieranych płynów jest nieznacznie wyższa u szczurów linii WHP w porównaniu z ich odpowiednikami linii WLP (tab. 1). U naiwnych szczurów (17 pokolenie) masa ciała nie różni

Tabela 1.

Spożycie etanolu, płynów i pokarmu przez szczury linii WHP i WLP z 22 pokolenia, mierzone w czwartym tygodniu procedury oceny picia. Roztwór etanolu (10%) i wodę oferowano w dwóch butelkach zapewniając nieograniczony dostęp w ciągu doby

Consumption of ethanol, fluids and food by 22 generation of WHP and WLP rats measured during the 4th week of the experiment assessing drinking. Ethanol solution (10%) and water were available in free-two bottle choice

	linia WHP <i>WHP line</i>	linia WLP <i>WLP line</i>
Spożycie etanolu <i>Ethanol consumption g/kg/24 h</i>	9,16 ± 0,5*	0,55 ± 0,2
Preferencja etanolu (%) <i>Preference of ethanol (%)</i>	89,20 ± 2,0**	7,10 ± 1,5
Spożycie pokarmu <i>Food consumption g/kg/24 h</i>	58,30 ± 2,1**	64,30 ± 2,2
Całkowite spożycie płynów <i>Total consumption of fluid ml/kg/24 h</i>	116,60 ± 7,0**	98,80 ± 7,0

N = 12 zwierząt w grupie. Wyniki przedstawione w postaci średnich wartości ± SEM.

* p < 0,01 vs linia WLP, ** p < 0,05 (szczegóły w tekście)

N = 12 animals/group. Results are mean ± SEM.

* p < 0.01 vs WLP line, ** p < 0.05

się znacząco pomiędzy liniami WHP i WLP (28). Ponadto, poddane działaniu alkoholu, po 4 tygodniach szczury WHP wykazują nieznacznie mniejszą masę ciała w porównaniu ze szczurami WLP (28).

Aktywacja lokomotoryczna i uspokajający wpływ etanolu

Uznaje się, że genetycznie uwarunkowane preferowanie alkoholu lub brak takiego uwarunkowania może być przyczyną różnic we wrażliwości osobniczej na działanie małych i dużych dawek etanolu (29).

W badaniach przedklinicznych wykazano, że małe dawki alkoholu działają pobudzająco na szczury preferujące alkohol linii P, HAD, AA, sP, podczas gdy podobnej stymulacji nie zauważono u szczurów linii niepreferujących alkoholu NP, LAD, ANA i sNP (3, 30, 31, 32, 33). Przy użyciu innej procedury doświadczalnej (test podwyższonej platformy) stwierdzono, iż szczury linii HAD są znacznie mniej reaktywne (liczba wyskoków na platformę) w porównaniu ze szczurami linii LAD (3, 34). Nasze badania również potwierdziły różnice w odpowiedzi na niską dawkę etanolu między liniami preferującymi i niepreferującymi etanol (13, 16). Jak wykazaliśmy, jednorazowe dootrzewnowe podanie 0,5 g/kg etanolu wywołuje ok. dwukrotnie wyższe pobudzenie lokomotoryczne u szczurów linii WHP (przebyty dystans 7137 cm) w porównaniu ze szczurami linii WLP (przebyty dystans 4714 cm).

W przeciwieństwie do nasilenia aktywności lokomotorycznej pod wpływem niskich dawek etanolu, wyższe dawki tej substancji wywołują u naiwnych szczurów działanie sedatywne. Przeprowadzone badania wykazały, że linie szczurów wysoko preferujące alkohol (np. P) są mniej wrażliwe na duże dawki etanolu działające sedatywnie, niż linie niepreferujące alkoholu (np. NP) (3, 11). Nasze badania na szczurach WHP i WLP z 11 i 12 pokolenia wykazały, że szczury WLP spały wyraźnie dłużej (185 ± 11 min.) po podaniu wysokiej dawki etanolu (5 g/kg) w porównaniu ze szczurami WHP (115 ± 20 min.) (35). W celu wyjaśnienia różnych efektów działania etanolu u szczurów preferujących etanol i niepreferujących go niezbędne są dalsze badania farmakokinetyczne w zakresie metabolizmu etanolu.

Badania neurochemiczne

Inne badania dotyczyły roli dopaminy (DA) w preferencji picia alkoholu. Wiele prac podnosi znaczenie projekcji dopaminergicznej z brzusznej nakrywki mostu do jądra półleżącego przegrody (mezolimbiczny układ dopaminowy) w powstawaniu wzmacniającego efektu alkoholu lub innych nadużywanych substancji (36, 37, 38, 39). Co ciekawe, często stwierdza się, że wyselekcjonowane linie szczurów są zróżnicowane pod względem zawartości DA w tym układzie (40). I tak, preferujące alkohol szczury P i HAD mają o 10–30% niższą zawartość DA i jej metabolitów (DOPAC i HVA) w jądrze półleżącym przegrody i grzbietowym prążkowie w porównaniu z ich niepreferującymi alkoholem odpowiednikami (3).

Nasze badania neurochemiczne na naiwnych szczurach z 21 pokolenia wykazały obniżenie stężenia DA (o ok. 25%) i jej metabolitów (o ok. 50%) w prążkowiu oraz 5-HT w hipokampie szczurów linii WHP w porównaniu ze szczurami z linii WLP (16).

Kompleks receptorowy GABA-A został zidentyfikowany jako szczególnie ważny element, przez który alkohol nasila hamującą aktywność neuronalną GABA (41, 42, 43). Badania na liniach szczurów P/NP oraz HAD/LAD wykazały większą gęstość receptorów GABA-A w jądrze półleżącym przegrody u szczurów z linii preferującej etanol (44). Co więcej, autoradiograficzne badania receptorów GABA-A w poszczególnych strukturach mózgowych ujawniły podobne różnice pomiędzy linią zwierząt preferującą alkohol AA i niepreferującą ANA (45).

Stosując w naszych badaniach metodę autoradiografii *in vitro* oceniliśmy rozmieszczenie i gęstość receptorów GABA-A w mózgach szczurów WHP i WLP, stosując [³H]muscimol, znakowany ligand tych receptorów (46). Jak wykazaliśmy, gęstość receptorów GABA-A była znacznie większa w korze obręczy u szczurów linii WHP w porównaniu ze szczurami linii WLP, natomiast obie linie miały podobną gęstość receptorów GABA-A w korze czołowej i jądrze półleżącym przegrody (46). Prezentowane dane pochodzą z doświadczeń przeprowadzonych na szczurach mających historię alkoholową, co oznacza, że przed badaniami autoradiograficznymi, zwierzęta były początkowo zmuszane do picia 10% etanolu (przez tydzień), później poddawane testowi dwóch butelek (wybór pomiędzy wodą i 10% roztworem etanolu) przez cztery kolejne tygodnie. Można sądzić, że większe pobieranie etanolu przed wykonaniem analiz autoradiograficznych jest w pewnym stopniu związane z różnicami w wiązaniu [³H]muscimol do receptorów GABA-A u szczurów WHP i WLP.

Aby wykluczyć własny efekt alkoholu, kolejne nasze badania przeprowadzone zostały na naiwnych szczurach WHP i WLP. Badania te wykazały brak różnic między dwiema liniami w wiązaniu [³H]muscimolu w różnych strukturach mózgowych szczurów, co potwierdza przypuszczenie o pozytywnej korelacji pomiędzy zwiększoną gęstością receptorów GABA-A w korze obręczy a spontanicznym piciem alkoholu, i dalej o znaczeniu tych receptorów w mechanizmie działania alkoholu. W dalszych badaniach, używając antysensownych oligonukleotydów (aODNs), badano rolę podjednostek receptora GABA-A w preferencji etanolu u szczurów WHP (47). Przez 5 kolejnych dni aODN (10 nmoli/4 μ l) dla podjednostki $\alpha 1$ i $\gamma 2$ receptora GABA-A podawane były raz dziennie do prawej komory mózgu szczurów WHP z 16 pokolenia. Takie mikroiniekcje aODNs skutkowały wyraźnym spadkiem kodowania podjednostki $\alpha 1$ i $\gamma 2$ receptora GABA-A, co oceniano przy użyciu techniki RT-PCR. Wyniki doświadczeń behawioralnych pokazują, że spadek liczby podjednostek m-RNA $\alpha 1$ wywołuje obniżenie, podczas gdy redukcja liczby podjednostek m-RNA $\gamma 2$ powoduje wzrost dobrowolnego pobierania alkoholu (47).

Wyniki wskazują na zaangażowanie receptorów GABA-A w efektach alkoholu u szczurów linii WHP oraz podkreślają pozytywną zależność pomiędzy gęstością tych receptorów a piciem etanolu przez zwierzęta.

Wpływ leków na pobieranie alkoholu

Szczury preferujące alkohol są narzędziem badawczym w farmakoterapii choroby alkoholowej. Większość badań dotyczących potencjalnej farmakoterapii tej choroby skupia się na układach monoaminoergicznym, opioidowym i kanabinoidowym (48, 49, 50). Jak wykazali Colombo i wsp., morfina i kanabinoidy funkcjonuje jak „starter” pobierania alkoholu (51), a efekty tych substancji autorzy wiąże z nasileniem neurotransmisji dopaminowej (52).

Na szczurach WHP były badane tylko dwie substancje: antagonistą opioidowym (naltrexon) i antagonistą receptora kanabinoidowego CB1 (rimonabant=SR 141716). Stwierdziliśmy, iż naltrekson (1,0, 2,5 i 5,0 mg/kg) i rimonabant 2,5, 5,0 i 10 mg/kg dawko-zależnie zmniejszają picie etanolu przez szczury linii WHP (15, 53).

Podsumowanie i wnioski. Prowadzone przez nas badania na szczurach linii WHP i WLP ujawniły liczne cechy fenotypowe charakteryzujące te zwierzęta. Szczury WHP dobrowolnie i niezależnie od zastosowanej procedury udostępniania piją znaczne ilości alkoholu. U tych zwierząt alkohol wykazuje silne działanie motywacyjne w instrumentalnej procedurze samopodawania, gdzie szczury wykonują pracę w postaci naciskania dźwigni w celu uzyskania porcji etanolu. Co więcej, dobrowolnie spożywany alkohol jest w stanie wywołać niewielkie, ale widoczne oznaki zależności fizycznej (zespół abstynencyjny). Stężenie 5-HT i DA w mózgu szczurów linii WHP jest niższe w porównaniu z mózgiem szczurów linii WLP. Z literatury wynika, że oprócz naszej linii szczurów WHP, tylko linia P jest dokładnie scharakteryzowana pod względem efektów behawioralnych w zakresie kryteriów przyjętych jako niezbędne dla zwierzęcego modelu alkoholizmu (3).

Warto podkreślić brak odpowiedzi na wiele pytań dotyczących szczurów linii WHP i WLP. Nie ma np. danych na temat różnic w tolerancji i metabolizmie alkoholu oraz picia przy ograniczeniach kalorycznych. Inną nieznaną odpowiedzią jest genotyp wyselekcjonowanych linii, a zidentyfikowanie *loci* genu odpowiadającego za ilościową preferencję alkoholu może – oprócz profilu fenotypowego – służyć lepszemu zrozumieniu nadużywania i uzależnienia od alkoholu. Kolejnym założeniem na przyszłość jest kontynuacja dokumentacji profili fenotypowych linii WHP i WLP. Podsumowując, przyszłe badania będą niezbędne, by bardziej dogłębnie i precyzyjnie scharakteryzować zasadność wykorzystania szczurów WHP w roli zwierzęcego modelu alkoholizmu.

PIŚMIENNICTWO

1. Li TK, Lumeng L, McBride WJ, Murphy JM (1987) Rodent lines selected for factors affecting alcohol consumption. *Alcohol and Alcoholism*, 1 (suppl), 91–96.
2. Li TK, Lumeng L, McBride WJ, Murphy JM (1994) Genetic and neurobiological basis of alcohol-seeking behavior. *Alcohol and Alcoholism*, 29, 697–700.

3. Murphy JM, Stevart RB, Bell RL, Badia-Elder NE, Carr LG, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (2002) Phenotypic and genotypic characterization of the Indiana University rat lines selectively bred for high and low alcohol preference. *Behavior Genetics*, 32, 363–388.
4. Eriksson K (1968) Genetic selection for voluntary alcohol consumption in the albino rat. *Science*, 159, 739–741.
5. Li TK, Lumeng L, McBride WJ, Murphy JM (1994) Genetic and neurobiological basis of alcohol-seeking behavior. *Alcohol and Alcoholism*, 29, 697–700.
6. Li TK, Lumeng L, Doolittle DP (1993) Selective breeding for alcohol preference and associated responses. *Behavior Genetics*, 23, 163–170.
7. Colombo G, Agabio R, Lobina C, Reali R, Vacca G, Gessa GL (1997) Sardinian alcohol-preferring rats prefer chocolate and sucrose over ethanol. *Alcohol*, 14, 611–615.
8. Fadda P, Mosca E, Colombo G, Gessa GL (1989) Effect of spontaneous ingestion of ethanol on brain dopamine metabolism. *Life Science*, 44, 281–287.
9. Crabbe JC (1983) Sensitivity to ethanol in inbred mice: genotypic correlations among several behavioral responses. *Behavioral Neuroscience*, 97, 280–289.
10. Bisaga A, Kostowski W (1993) Selective breeding of rats differing in voluntary ethanol consumption. *Polish Journal of Pharmacology*, 45, 431–436.
11. Lumeng L, Waller MB, Mc Bride WJ, Li TK (1982) Different sensitivity to ethanol in alcohol-preferring and non-preferring rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16, 125–130.
12. Dyr W, Kostowski W (2004) Preliminary phenotypic characterization of the Warsaw High Preferring (WHP) and Warsaw Low Preferring (WLP) lines of rats selectively bred for high and low ethanol consumption. *Polish Journal of Pharmacology*, 56, 359–365.
13. Dyr W, Kostowski W (2000) Animal model of ethanol abuse: rats selectively bred for high and low voluntary alcohol intake. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 57, 90–92.
14. Dyr W, Siemiątkowski M, Płażnik A, Bidziński A, Kostowski W (1999) Alcohol intake and brain [3H]muscimol binding sites in alcohol preferring and non-preferring rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 51, 119–123.
15. Dyr W, Kostowski W (2003) Reduction of alcohol drinking by oral naltrexone in ethanol-preferring WHP rats. *Polish Journal of Pharmacology*, 55, 296.
16. Dyr W, Kostowski W (2002) Behavioral characteristics of WHP and WLP lines of rats selected for the high and low preference of ethanol. *Polish Journal of Pharmacology*, 54, 540.
17. Middaugh LD, Kelley MB (1999) Operant ethanol reward in C57BL/6 mice: influence of gender and procedural variables. *Alcohol*, 17, 185–194.
18. Samson HH, Pfeiffer AO, Tolliver GA (1988) Oral ethanol self-administration in rats: model of alcohol-seeking behavior. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 12, 591–598.
19. Samson HH, Tolliver GA, Lumeng L, Li TK (1989) Ethanol reinforcement in the alcohol non-preferring rat: initiation using behavioral techniques without food restriction. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 13 (3), 378–385.
20. Cicero TJ (1980) Animal models of alcoholism. W: Eriksson K, Sinclair J, Kiianmaa K (red.) *Animal Models in Alcohol Research*. New York: Academic Press, 99–117.
21. Lester D & Freed EX (1973) Criteria for an animal alcoholism. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1, 103–107.
22. Bieńkowski P, Kostowski W, Koroś E (1999) Ethanol-reinforced behaviour in the rat: effects of naltrexone. *European Journal of Pharmacology*, 374, 321–327.
23. Vacca G, Serra S, Brunetti G, Carai MA, Samson HH, Gessa GL, Colombo G (2002) Operant self-administration of ethanol in Sardinian Alcohol-Preferring rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26, 1678–1685.
24. Sinclair JD, Kampov-Polevoy A, Steward R, Li TK (1992) Taste preference in rat lines selected for low and high alcohol consumption. *Alcohol*, 9, 155–160.
25. Stewart RB, Russel RN, Lumeng L, Li TK & Murphy JM (1994) Consumption of sweet, salty, sour and bitter solutions by selectively bred alcohol-preferring P and -nonpreferring NP lines of rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 18, 375–381.

26. Dyr W, Krząścik P, Dudek K, Witanowska A, Dzierzkowska J, Kostowski W (1999) A new line of Wistar rats selected for preference for alcohol: behavioral characteristics. *Alkoholizm i Narkomania*, 37, 525–543.
27. Lankford MF, Roscoe AK, Pennington SN, Myers RD (1991) Drinking of high concentrations of ethanol versus palatable fluids in alcohol-preferring P rats: Valid animal model of alcoholism. *Alcohol*, 8, 293–299.
28. Mikołajczak P, Okulicz-Kozaryn I, Kamińska E, Szulc M, Dyr W, Kostowski W (2003) Lack of ifenprodil anxiolytic activity after its multiple treatment in chronically ethanol-treated rats. *Alcohol and Alcoholism*, 38, 4, 310–315.
29. Schuckit MA (1994) Low level of response to alcohol as a predictor of future alcoholism. *American Journal of Psychiatry*, 151, 184–189.
30. Agabio R, Carai MA, Lobina C, Pani M, Reali R, Vacca G, Gessa GL, Colombo G (2001) Alcohol stimulates motor activity in selectively bred Sardinian alcohol-preferring rats (sP) but not in Sardinian alcohol-nonpreferring (sNP) rats. *Alcohol*, 23, 2, 123–126.
31. Colombo G, Agabio R, Lobina C, Reali R, Vacca G, Gessa GL (1998) Stimulation of locomotor activity by voluntarily consumed ethanol in Sardinian alcohol-preferring rats. *European Journal of Pharmacology*, 357, 109–113.
32. Paivarinta P, Korpi ER (1992) Voluntary ethanol drinking increases locomotor activity in alcohol-preferring AA rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 44, 127–132.
33. Waller MB, Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1986) Effect of low dose ethanol on spontaneous motor activity in alcohol-preferring and -nonpreferring lines of rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 24, 617–623.
34. Suwaki H, Kalant H, Higuchi S, Crabbe JC, Okhuma S, Katsura M, Yoshimura M, Steward RB, Li TK (2001) Recent research on alcohol tolerance and dependence. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 25, 189S–190S.
35. Dyr W, Witanowska A, Dzierzkowska J, Iwińska K, Krząścik P, Kostowski W (1998) Biochemical and behavioral analysis of a new line of rats selectively bred for high ethanol consumption. *Alkoholizm i Narkomania*, 30, 19–27.
36. Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1982) Regional brain levels of monoamines in alcohol-preferring and -nonpreferring rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16, 145–149.
37. Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1987) Contents of monoamines in forebrain regions of alcohol-preferring (P) and -nonpreferring (NP) lines of rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 26, 389–392.
38. Gongwer MA, Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1989) Regional brain contents of serotonin, dopamine and their metabolites in the selectively bred high- and low-alcohol drinking lines of rats. *Alcohol*, 6, 311–320.
39. Koob GF, Roberts AJ, Schulties G, Parsons LH, Heyser CJ, Hyytia P, Merlo-Pich E, Weiss F (1998) Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcohol, Clinical and Experimental Research*, 22 (1), 3–9.
40. McBride WJ, Murphy JM, Lumeng L, Li TK (1990) Serotonine, dopamine and GABA involvement in alcohol drinking in selectively bred rats. *Alcohol*, 7, 199–205.
41. Grant KA (1994) Emerging neurochemical concept in the action of ethanol at ligand-gated ion channels. *Behavioural Pharmacology*, 5, 383–404.
42. Hunt WA (1983) The effect of ethanol on GABAergic transmission. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 7, 87–95.
43. Korpi E (1994) Role of GABA-A receptors in the actions of alcohol and alcoholism: recent advances. *Alcohol and Alcoholism*, 29, 115–120.
44. Hwang BH, Lumeng L, Wu JY, Li TK (1990) Increased number of GABAergic terminals in the nucleus accumbens is associated with alcohol preference in rats. *Alcohol, Clinical and Experimental Research*, 14, 503–507.

45. Wong G, Ovaska T, Korpi ER (1996) Brain regional pharmacology of GABA-A receptors in the alcohol-preferring AA and alcohol-avoiding ANA rats. *Addiction Biology*, 1, 263–292.
46. Dyr W, Siemiątkowski M, Krząścik P, Bidziński A, Płaźnik A, Kostowski W (2002) Neurotransmitter levels and [3 H]muscimol binding sites in the rats selectively bred for alcohol preference and nonpreference. *Polish Journal of Pharmacology*, 54, 115–130.
47. Malatyńska E, Dyr W, Krząścik P, Kostowski W (2001) Changes in ethanol preference by rats with alpha, and gamma2 GABA-A receptor subunit antisense oligonucleotides. *Alcohol and Alcoholism*, 36, 309–313.
48. Froehlich JC, Harts J, Lumeng L, Li TK (1990) Naloxone attenuate voluntary ethanol intake in rats selectively bred for high ethanol preference. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 25, 285–390.
49. Gatto GJ, Murphy JM, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1990) Effects of Fluoxetine and desipramine on palatability-induced ethanol consumption in the alcohol-nonpreferring (NP) line of rats. *Alcohol*, 7, 531–536
50. Overstreet DH, Kampov-Polevoy AB, Rezvani A, Braun C, Bartus RT, Crews FT (1999) Suppression of alcohol intake by chronic naloxone treatment in P rats: tolerance development and elevation of opiate receptor binding *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 23, 366–369.
51. Colombo G, Lobina C, Carai M, Gessa GL (2006) Phenotypic characterization of genetically selected Sardinian alcohol-preferring (sP) and non-preferring (nsP) rats. *Addiction Biology*, 11, 324–338.
52. Di Chiara G (1995) The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug and Alcohol Dependence*, 38, 95–137.
53. Dyr W, Ligęza J, Kostowski W (2008) Wpływ antagonisty receptora kanabinoidowego SR 141716 na picie alkoholu przez szczury linii WHP. *Alkoholizm i Narkomania*, 1, 45–54.

Adres do korespondencji

Wanda Dyr

Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego

Instytut Psychiatrii i Neurologii

ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa

tel. (022) 4582 728

e-mail: wdyr@ipin.edu.pl

otrzymano: 14.11.2008

przyjęto do druku: 20.02.2009