

Prace badawcze

WYSELEKCJONOWANE LINIE SZCZURÓW WHP I WLP: CHARAKTERYSTYKA BEHAWIORALNA I NEUROCHEMICZNA

Wanda Dyr

Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie

SELECTED LINES OF RATS WHP AND WLP: BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL CHARACTERISTIC

ABSTRACT – Alcoholism as a disease reveals loss of control alcohol drinking, craving, psychical and physical dependence. Preclinic assessment of alcoholism treatment efficacy is making by the use animal models. In the Department of Pharmacology of the Institute Psychiatry and Neurology were genetically selected Warsaw High Preferring (WHP) and Warsaw Low Preferring (WLP) lines of rats. WHP are characterized by high ethanol consumption (over 5g/kg/24h), while WLP – by low one (below 2g/kg/24h). Both lines have shown behavioral and neurochemical differences. WHP rats intake much more of alcohol than WLP rats during the nocturnal hours but blood ethanol level is almost the same in spite of significant differences of drinking during the day. WHP rats intake much more sweet substances as the 5, 10, 30% solution of sucrose or 0.1% saccharine in comparison to WLP rats. It was shown, that phenotypes excessive (WHP line) and smallest (WLP line) intake of ethanol have been fixed in the 23-24 generation. There is significant correlation between amount of ethanol drinking by the WHP and WLP rats and magnitude of binding (H)muscimole in cingulated cortex. No such correlation in ethanol-naive rats. The concentration of dopamine (DA) and its metabolites (DOPAC, HVA) was significantly decreased in the striatum of WHP rats in comparison with WLP rats. In addition, after treatment parenteral 0.5 g/kg of ethanol WHP rats have shown locomotor activity. Injection per os 1.0; 2.5; 5.0 mg/kg naltrexone decreased dose-related intake of ethanol in the WHP rats.

Key words: rats WHP, rats WLP, ethanol, preference to ethanol.

WSTĘP

Udział czynników biologicznych, psychosocjalnych i kulturowych w patogenezie alkoholizmu jest znaczny. Czynniki te przyczyniając się do rozwoju zaburzeń w sferze emocjonalnej, mogą prowadzić do poszukiwania alkoholu i przymusu picia. Alkoholizm jako choroba objawia się klinicznie utratą kontroli nad piciem i niepomowanym jego pragnieniem, zależnością fizyczną i psychiczną. Nadużywanie alkoholu etylowego często prowadzi do deficytu neuronalnego w wielu strukturach mózgu, w tym w mózdzku, jądrach wzgórza i hipokampie (5)

Badania nad alkoholizmem sprawiają wiele trudności, między innymi z powodu etycznych ograniczeń w prowadzeniu badań klinicznych u ludzi. Poszukiwanie nowych leków zmniejszających picie jest jednym z głównych celów w badaniach nad uzależnieniem alkoholowym. Ocena skuteczności takich leków w testach przedklinicznych wymaga zastosowania odpowiednich modeli zwierzęcych naśladujących zaburzenia charakterystyczne dla alkoholizmu ludzi. Opracowanie takiego modelu jest niezwykle trudne, ponieważ zwierzęta na ogół unikają alkoholu z powodu jego działań awersyjnych, najczęściej wywołanych smakiem i zapachem.

W wyniku hodowli i długotrwałej selekcji pod kątem określonego fenotypu otrzymano linie szczurów z utrwalonym, zwiększonym piciem alkoholu. Zwierzęta te w warunkach swobodnego wyboru między roztworem alkoholu etylowego (8-10%) i wody wypijają duże ilości ($\geq 5,0$ g/kg/24h) czystego etanolu. Takie linie szczurów otrzymane poprzez genetyczną selekcję pozyskano w niewielu laboratoriach badawczych. Do najbardziej znanych należą ALCO alcohol/nonalcohol (AA/ANA) (19), Alcohol Preferring/Nonpreferring (P/NP) (34); UChB/UChA (University of Chile) (37); HAD/LAD (High/Low/Alcohol Drinking) (34) i sP/NSP (Sardinian Alcohol – preferring/nonpreferring) (20). Picie alkoholu przez szczury linii P, HAD, sP, i AA często przewyższa 5 g/kg/24h, spełniając tym samym zasadnicze, umowne kryterium zwierzęcego modelu uzależnienia od alkoholu. Szczury pijące co najmniej 5 g/kg/24h czystego etanolu określa się jako wysoko preferujące alkohol. Linie zwierząt wyselekcjonowane genetycznie, które również w warunkach wolnego wyboru piją mniej niż 1 g/kg/24h czystego alkoholu należą do linii niepijących lub mało pijących alkohol. Do takich linii należą: ANA (Alko Non-Alkohol), SnP (Sardinian – non preferring), LAD (Low-Alcohol Drinking), NP (Non-Preferring).

Szczury WHP i WLP

W Zakładzie Farmakologii Instytutu Psychiatrii i Neurologii od wielu lat są prowadzone prace w celu pozyskania wyselekcjonowanych linii szczurów, które w warunkach wolnego wyboru alkoholu i wody preferują roztwory alkoholu i piją spontanicznie znaczne jego ilości (przekraczające często 5 g/kg/24h czystego etanolu). Linie taką pozyskano przez kojarzenie zwierząt pokolenia F2 genetycznie heterogen-

nego, wybierając w ramach miotu zwierzęta spontanicznie pijące duże ilości alkoholu i zwierzęta mało pijące oraz krzyżując pod kątem docelowego fenotypu, dbając, aby dana para nie miała wspólnych przodków do drugiego pokolenia wstecz (4). Linia szczurów spontanicznie pijących duże ilości alkoholu (≥ 5 g/kg/24h) w warunkach wolnego wyboru między wodą a 10% roztworem alkoholu etylowego określona została nazwą WHP (Warsaw High Preferring). Zarówno samce jak i samice spożywają alkohol w ilościach przekraczających 5 g/kg/24h. Równoległą wyselekcjonowaną linią jest linia WLP (Warsaw Low Preferring), pijąca spontanicznie niewielkie ilości alkoholu (> 2 g/kg/24h).

Struktura picia alkoholu przez szczury WHP i WLP

Wykazano, że szczury linii WHP i WLP w pokoleniu F15., F16. i F17. różniły się znacznie i w sposób istotny pod względem wielkości picia. I tak, od 5% do 28% zwierząt z linii WHP piło alkohol (w zakresie 0-2 g/kg/24h), podczas gdy dla linii WLP wartość ta wynosi aż 57%. Liczba zwierząt linii WLP pijących coraz większe ilości alkoholu (alkohol w ilości powyżej 8 g/kg/24h) wyraźnie maleje osiągając wartość od 0-1,2% badanej grupy zwierząt. Jednocześnie aż 43,5% szczurów z linii WHP spożywa alkohol powyżej 8 g/kg/24h (14). W pokoleniu F19 wykazano, że średnia ilość wypitego alkoholu przez szczury z grupy WHP była większa niż 5 g/kg/24h, podczas gdy szczury WLP piły mniej niż 2.0 g/kg/24h. Preferencja alkoholu przez szczury tego pokolenia wynosiła około 80% i poniżej 20% odpowiednio dla szczurów WHP i WLP (15).

Analiza dobowego rozkładu picia alkoholu u szczurów WHP i WLP wykazała, że szczury WHP piją znacznie więcej alkoholu w godzinach nocnych w porównaniu do szczurów WLP (14).

Alkoholemia u szczurów WHP i WLP i zespół odstawienia alkoholu

Przy spożyciu alkoholu w ilości 4,27 g/kg/24h i 1.78 g/kg/24h odpowiednio przez szczury linii WHP i WLP, stężenie alkoholu we krwi szczurów WHP wynosi 0,045 g/dl, a dla WLP 0,06 g/dl. (14). Pomimo znaczących różnic w ilości wypitego alkoholu w ciągu doby, stężenia alkoholu we krwi nie różnią się między sobą, co nasunęło przypuszczenie, że szczury linii WHP znacznie szybciej metabolizują alkohol. Na szybszy metabolizm alkoholu etylowego wskazywałyby również obniżone poziomy alkoholu we krwi u szczurów WHP w porównaniu do WLP po podaniu dootrzewnowym alkoholu w dawce 2 g/kg. Stwierdzono, że stężenie alkoholu we krwi szczurów WHP wynosi około 50 mg%, natomiast u szczurów WLP około 120 mg% (12).

Odstawienie alkoholu szczurom linii WHP powoduje wystąpienie (po 14-36 godzinach) niektórych objawów zespołu abstynencyjnego. Objawy zespołu charakteryzowały się piloerekcją, sztywnością mięśniową i zwiększoną wrażliwość na bodźce zewnętrzne (14).

Wpływ słodkich substancji na picie alkoholu

Szczury WHP, poddane procedurze wolnego wyboru picia między wodą a słodkimi substancjami, takimi jak roztwory sacharozy lub sacharyny, piły znacznie więcej 5%, 10% i 30% roztworu sacharozy niż szczury WLP. Największe różnice wystąpiły przy dostępie do 30% roztworu sacharozy. Również szczury WHP piją znacznie więcej 0,1% roztworu sacharyny niż szczury WLP. Ten preferencyjny efekt słodkich substancji u szczurów WHP wyraźnie koreluje z ich genetyczną skłonnością do alkoholu. Picie alkoholu i wody przez szczury WHP jest bardzo zredukowane w obecności 10% roztworu cukru. Zgodnie z danymi z piśmiennictwa, szczury linii P (prefering) również piją samoistnie 5 g/kg/24h i więcej czystego alkoholu w obecności substancji pokarmowych (36). Nasze badania wykazały, że picie dużych stężeń sacharozy (30%) i sacharyny (0,1%) było znacząco większe u szczurów WHP niż u WLP (15).

Linia szczurów Occidental High-Saccharin-Consumption (HiS) jest jedyną znaną linią opartą na fenotypie preferencji sacharyny. LoS (Low-Saccharin) i HiS różnią się pod względem spożycia sacharyny (29). Linia HiS pije znaczne ilości sacharyny, ale również znacznie więcej etanolu niż LoS. Także myszy linii DAA/2J piją mniej sacharyny i zarazem mniej alkoholu w porównaniu do linii C57BL (3). Uważa się, że u podłoża preferencji etanolu i sacharyny leżą podobne mechanizmy neurobiologiczne. W konkluzji można stwierdzić, że wyniki naszych badań mogą wskazywać na bliską zależność między genetycznymi czynnikami wpływającymi na mechanizm picia alkoholu i sacharyny. Wzmacniające działanie alkoholu i substancji słodkich może być zależne od tego samego lub zbliżonego układu neuronalnego. Wiadomo, że substancje o przyjemnym smaku mogą zmniejszać przyjmowanie wielu "wzmacniających substancji" takich jak; alkohol, amfetamina i fencyklidyna (33).

Badanie trwałości fenotypu picia alkoholu szczurów WHP i WLP

W badaniach linii WHP i WLP testowano wpływ ekspozycji szczurów na stopniowo wzrastające stężenia 2-10% alkoholu na ich profil picia i czynność ta miała ważne znaczenie dla określenia trwałości fenotypów picia alkoholu obydwu linii. Wyniki wykazały, że szczury linii WHP i WLP różnią się istotnie pod względem wielkości spożycia alkoholu i różnica ta utrzymuje się niezależnie od procedury inicjowania picia w warunkach wolnego wyboru między wodą a roztworem alkoholu. Przez cały czas trwania doświadczenia, tj. przez 9 tygodni przy dostępie tylko do 10% roztworu alkoholu, szczury WHP już w pierwszym tygodniu spożywały duże ilości alkoholu (5 g/kg/24h i więcej). Spożycie utrzymywało się niezmiennie przez cały czas trwania eksperymentu. Natomiast zwierzęta linii WLP spożywały bardzo mało alkoholu nie tylko względem linii WHP, lecz także w porównaniu z nieselekcjonowanymi szczurami Wistar. Ta bardzo mała konsumpcja nie zmieniała się w warunkach stopniowo wzrastających stężeń (2-10%) roztworu alkoholu przez szereg tygodni i nie przekra-

czała 2 g/kg/24godz, w przeciwieństwie do zwierząt z linii WHP, które piły coraz większe ilości osiągając co najmniej 5 g/kg/24h i więcej (16). Badania te wykazały, że fenotypy nadmiernego spożycia alkoholu (linia WHP) i spożycia najmniejszego (linia WLP) są dobrze utrwalone w pokoleniach F_{23-24} .

Istotny wpływ na picie alkoholu wywiera smak, ponieważ sygnały smakowe stanowią ważny element pokarmowy (1, 9, 26). Smak alkoholu może mieć istotne znaczenie w jego spożyciu, które w nadmiernych ilościach prowadzi do rozwoju uzależnienia. Zmiana stężenia alkoholu może wpływać na jego smak. Wykazano, że w miarę stopniowego zwiększania stężenia roztworu etanolu od 5% do 40%, zwierzęta zaczynają akceptować coraz większe jego stężenia (26, 30).

Unikanie alkoholu przez szczury WLP może wynikać z wielu przyczyn. Jedną z nich może być silniejsza awersja smaku alkoholu i słabszy rozwój tolerancji na nią. Generalnie, reakcje na podanie alkoholu są określane jako pokarmowe (ruchy języka i warg ułatwiające przyjęcie pokarmu) lub awersyjne (różnorodne ruchy warg, języka i ciała w celu odrzucenia i usunięcia substancji) (26, 30). Z piśmiennictwa wynika, że szczury AA (linia szczurów preferująca alkohol) reagują silniej niż szczury ANA odruchowymi czynnościami pokarmowymi warg i języka na różne stężenia roztworów alkoholu. Te zwierzęta były bardziej odporne na awersyjne właściwości smakowe alkoholu, przy czym taka oporność nie wystąpiła w stosunku do awersyjności, np. na gorzki smak chininy (30).

Gęstość receptorów $GABA_A$ w strukturach mózgowych szczurów WHP i WLP

Mechanizmy neuroprzekaznikowe leżące u podstaw nadmiernego i małego spożycia alkoholu są przedmiotem wielu badań, pozostają jednak wciąż mało poznane. W szczególności przekazywanie GABA-ergiczne i receptor $GABA_A$ jest silnie wiązany z działaniem alkoholu (28). Etanol nasila hamującą aktywność neuronalną GABA poprzez zwiększony napływ jonów chlorkowych do wnętrza neuronu, zwiększając jego polaryzację (25, 27, 35, 43). Technika wiązania ligandów wykazano zmniejszenie liczby receptorów $GABA_A$ w hipokampie i w korze przedczołowej mózgu zmarłych alkoholików (32). Etanol nasila reakcje po podaniu GABA do specyficznych regionów mózgu, takich jak przegroda, substancja czarna, gałka biała (8, 31). Obserwacje te potwierdzają hipotezy, że etanol zwiększa działanie GABA poprzez oddziaływanie na receptor $GABA_A$ w określonych strukturach mózgu. Badania autograficzne receptorów $GABA_A$ wykazały, że występują regionalne różnice w ich gęstości u szczurów preferujących alkohol linii AA (Alco-Alcohol) w porównaniu do szczurów linii niepreferujących ANA (Alco-NonAlcohol) (47). Przy użyciu liganda receptora $GABA_A$ (3H)muscimolu określono gęstość tego receptora u szczurów linii WHP i WLP. W badanych strukturach, takich jak część przyśrodkowa i boczna przegrody, część ogoniasta skorupy (*caudate putamen*), jądro półleżące (*nucleus accumbens*), kora czołowa i zakrętu obręczy (*frontal et cingulatum cortex*) stwierdzono zwiększone wiązanie znakowanego muscimolu w bocznej i przyśrodkowej części przegrody

(*lateral et medial septum*) a także w zakręcie obręczy (*cingulatum cortex*) mózgu szczurów linii WHP. W zakręcie obręczy (*cingulatum cortex*) stwierdzono bardzo dużą różnicę sięgającą aż 48,5% zmiany w porównaniu do szczurów WLP. I tak, w zakręcie obręczy szczurów WHP wiązanie znakowanego muscimolu wynosiło 6,09 nCi/mg, podczas gdy u szczurów WLP wartość ta wynosiła 4,10 nCi/mg. Wiązanie (^3H)muscimolu było zatem większe o 48,5% w zakręcie obręczy szczurów linii WHP w porównaniu do szczurów linii WLP. Upřednia ekspozycja szczurów na alkohol wykazała, że zwierzęta linii WHP i WLP piły odpowiednio 6,8 i 1,48 g/kg/24h alkoholu. Przy zastosowaniu analizy regresji wykazano znamiennej korelację między ilością pitego alkoholu w ciągu doby przez szczury linii WHP i WLP a wielkością wiązania (^3H)muscimolu w korze zakrętu obręczy (13). Jednakże trudno było jednoznacznie określić, czy zwiększone wiązanie (^3H)muscimolu u szczurów linii WHP było powiązane z wrodzoną preferencją do picia alkoholu, jako że badanie autograficzne było przeprowadzone na zwierzętach z długim upřednim okresem picia. Okazało się, że u szczurów naiwnych (upřednio niepijących) WHP i WLP brak jest różnic w wiązaniu (^3H)muscimolu w tych samych badanych strukturach (17). Thielén i wsp. (1997) stwierdził, że GABA znacząco stymuluje wiązanie (^3H)flunitrazepamu w wielu strukturach mózgu u szczurów P (preferujących) i NP (niepreferujących) alkohol. Również gęstość wiązania (^3H)zolpidemu była podobna u szczurów FH preferujących alkohol i szczurów WKY – niepreferujących alkoholi w takich strukturach jak: mózdzek, gałka biała i jądro pasma samotnego. Jednakże, jednocześnie gęstość wiązania była wyższa w korze, w substancji czarnej i części brzusznej gałki bladej u szczurów FW w porównaniu do szczurów WKY (6). Linie szczurów P, HAD, sP selekcyonowane w kierunku tego samego fenotypu (wysokiej preferencji etanolu) różnią się znacznie pod względem parametrów neurochemicznych i behawioralnych (2, 41). Sugerowałoby to, że różne genotypy biorą udział w rozwoju preferencji do etanolu.

Poziom dopaminy i jej metabolitów w mózgu szczurów WHP i WLP

Stężenie dopaminy (DA) i jej metabolitów (DOPAC, HVA) było znamiennej obniżone w obrębie prądkowia u szczurów WHP w porównaniu do szczurów WLP (12, 17). Podobne zjawisko obserwowano u zwierząt linii P oraz HAD (39, 40). Stwierdzone zmiany w poziomie monoamin w mózgu szczurów WHP mogą być wynikiem selekcji zwierząt w kierunku genetycznie uwarunkowanej preferencji do picia dużych ilości alkoholu.

Wzmacniające efekty wielu nadużywanych leków mogą być stymulowane poprzez aktywację wspólnych szlaków neurochemicznych, w szczególności mezolimbicznego układu dopaminergicznego (23). Wykazano, że alkohol stymuluje wydzielanie DA w jądrze półleżącym (10, 27, 48, 49), jak również alkohol jest samopodawany bezpośrednio do brzusznej nakrywki mostu (*ventral tegmental area, VTA*) przez szczury P (22). Zmniejszenie gęstości receptorów D_2 w układzie mezolimbicznym mózgu szczurów preferujących alkohol może wskazywać, że genetyczne zmiany w tym układzie mogą odgrywać rolę w rozwoju skłonności do nadmiernego picia alkoholu. Picie etanolu, jak i nadużywanie substancji psychoaktywnych może być zmieniane

poprzez manipulację receptorami dopaminergicznymi. Wyniki badań Dyr i wsp. (11) nad wpływem agonistów i antagonistów receptorów dopaminergicznych typu D_1 i D_2 na picie alkoholu szczurów linii HAD również wskazują, że układ DA jest zaangażowany we wzmacniające działanie alkoholu w o.u.n.

Obszar przedniego prążkowiec otrzymuje dopaminergiczną projekcję głównie z istoty czarnej. Neurony docierające z brzusznej nakrywki mostu unerwiają przednio-pośrodkową część prążkowiec (24). Zmniejszone stężenie dopaminy i jej metabolitów u szczurów preferujących alkohol może być wynikiem zmniejszonej aktywności układu dopaminergicznego istoty czarnej i VTA. Uważa się, że neurony dopaminergiczne układu mezolimbicznego biorące początek w VTA są związane z "nagradzającym" efektem alkoholu (24).

Wpływ iniekcji etanolu na parametry behawioralne

Małe dawki etanolu działają pobudzająco i nasilają spontaniczną aktywność ruchową u gryzoni (46). Uważa się, że aktywność ruchowa wywołana małymi dawkami alkoholu jest wyrazem działania pozytywnego wzmocnienia etanolu. Takie hipotezy potwierdzałyby przypuszczenia, że efekty pobudzające środków psychoaktywnych są istotne w wytwarzaniu przez nie zależności alkoholowej i sprzyjaniu picia alkoholu przez ludzi (44). W badaniach szczurów linii P i NP wykazano, że małe dawki alkoholu (0,12 do 0,5 g/kg) po podaniu dootrzewnowym wyraźnie zwiększają aktywność ruchową, czego nie stwierdza się u zwierząt linii NP (46). Po podaniu dootrzewnowym alkoholu w dawce 0,5 g/kg również u szczurów WHP wystąpiła bardzo wyraźna stymulacja lokomotoryczna. Takiej stymulacji nie obserwuje się u szczurów WLP niepreferujących alkoholu (18).

U różnych gatunków szczurów, aktywność ruchowa jest odmienna po podaniu małych dawek alkoholu, co może wskazywać na istnienie genetycznej determinacji tego zjawiska (7, 21, 38, 45). Dodatnia korelacja między stymulacją aktywności ruchowej a preferencją szczurów do alkoholu może wskazywać, że taka stymulacja może być ważnym testem w badaniu wzmacniającego działania alkoholu.

Nie tylko małe dawki etanolu wywołują różną odpowiedź behawioralną u szczurów linii WHP i WLP, ale również duże dawki. Po parenteralnym podaniu etanolu w dawce 5 g/kg szczury linii WHP śpią dwa razy dłużej w porównaniu do szczurów WLP (18).

Wpływ naltreksonu na picie etanolu

Do badania wpływu naltreksonu na poziom picia zastosowano test ograniczonego dostępu, w którym zwierzętom podaje się do picia alkohol tylko przez określony czas (w naszym przypadku: 4 godziny) w obecności wody i pokarmu przez całą dobę. W takim badaniu można tylko testować ograniczany parametr (alkohol) mierząc ilość jego spożycia po 30, 60, 120, 180 i 240 min.

Oddzielnym grupom szczurów WHP podawano doustnie naltrekson w dawce 1,0; 2,5 i 5,0 mg/kg przez kolejne 4 dni. Każdego dnia po 30, 60, 120, 180 i 240 min od

podania oceniano efekt wpływu leku na picie alkoholu. Wykazano, że efekt jest dawko-zależny i dopiero trzeciego i czwartego dnia wystąpiła znamienna redukcja picia alkoholu po 240 min od podania leku w dawce 2.5 i 5.0 mg/kg. (tabele 1, 2, 3).

Zwierzęce modele alkoholizmu stanowią nieocenione narzędzie badawcze bardzo poważnego problemu medycznego, jakim jest alkoholizm. Wyselekcjonowane linie genetyczne zwierząt w kierunku określonego fenotypu picia alkoholu umożliwiają poszukiwanie neurobiologicznych czynników promujących picie alkoholu. Ich znajomość jest ciągle niewystarczająca. Stąd też poznanie ich umożliwia zrozumienie

TABELA 1
Picie etanolu (g/kg) przez szczury WHP po 30, 60, 120, 180, 240 min od podania naltreksonu w dawce 1, 0 mg/kg

Dni	30 min.		60 min.		120 min.		180 min.		240 min.	
	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K
I	0,04	0,15±0,05	0,40±0,18	0,8±0,18	1,0±0,1	1,6±0,2	1,6±0,23	2,2±0,25	2,18±0,25	3,07±0,15
II	0,4±0,1	0,47±0,1	0,51±0,17	0,65±0,18	0,83±0,16	1,5±0,35	1,6±0,21	2,3±0,23	1,9±0,16	2,8±0,25
III	0,3±0,06	0,49±0,2	0,8±0,1	0,76±0,2	1,2±0,12	1,4±0,3	1,6±0,2	1,8±0,2	2,3±0,21	3,3±0,23
IV	0,9±0,2	0,9±0,1	1,4±0,26	1,3±0,5	1,5±0,3	2,0±0,35	2,1±0,2	2,9±0,4	2,6±0,29	3,5±0,5

K – grupa kontrolna

TABELA 2
Picie etanolu (g/kg) przez szczury WHP po 30, 60, 120, 180, 240 min. od podaniu naltreksonu w dawce 2,5 mg/kg

Dni	30 min.		60 min.		120 min.		180 min.		240 min.	
	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K
I	0,24±0,09	0,36±0,09	0,43±0,12	0,68±0,12	0,7±0,15	1,07±0,15	1,06±0,17	1,76±0,17	1,8±0,2	2,54±0,2
II	0,15±0,09	0,35±0,09	0,24±0,12	0,69±0,12	0,57±0,15	1,2±0,15	0,92±0,17	1,71±0,17	1,4±0,2	2,45±0,2
III	0,12±0,05	0,31±0,09	0,24±0,12	0,62±0,12	0,43±0,15	0,9±0,16	0,78±0,17	1,5±0,17	1,06±0,2	2,2±0,2
IV	0,07	0,54±0,1	0,09	0,84±0,12	0,38±0,15	1,3±0,16	0,76±0,17	1,6±0,18	1,13*±0,2	2,6 ±0,21

K – grupa kontrolna, * vs K (240 min.) p < 0,04, post-hoc test Newman-Keuluss

TABELA 3
Picie etanolu (g/kg) przez szczury WHP po 30, 60, 120, 180, 240 min. po podaniu naltreksonu w dawce 5,0 mg/kg

Dni	30 min.		60 min.		120 min.		180 min.		240 min.	
	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K	LEK	K
I	0,3±0,06	0,25±0,06	0,4±0,1	0,4±0,1	0,5±0,16	0,8±0,16	0,9±0,2	1,2±0,2	1,3±0,25	2,0±0,25
II	0,2±0,06	0,3±0,06	0,4±0,1	0,4±0,1	1,0±0,16	1,4±0,16	1,6±0,2	2,2±0,2	1,8±0,2	2,6±0,2
III	0,09±0,04	0,26±0,06	0,35±0,1	0,75±0,1	0,6±0,16	1,3±0,16	1,2±0,2	2,2±0,2	1,94±0,2*	3,2±0,24
IV	0,17±0,06	0,19±0,06	0,04±0,1	0,5±0,1	0,56±0,16	0,9±0,16	0,9±0,2	1,7±0,2	1,5±0,2*	2,8±0,25

K – grupa kontrolna, * vs K (240min.) p < 0,05 test Newman-Keuluss

mechanizmu działania alkoholu etylowego, a co za tym idzie, możliwości leczenia ludzi nadużywających alkoholu i uzależnionych. Ze względów etycznych, eksperymentalne metody poszukiwania nowych możliwości farmakoterapii na ludziach są niemożliwe. Wyhodowanie linii zwierząt o dużej spontanicznej preferencji do alkoholu umożliwiają takie badania. Opracowanie takich linii wymaga dużego nakładu pracy, ponieważ pozyskanie określonych cech jest procesem długotrwałym. Stąd też, tylko w niewielu laboratoriach badawczych pozyskano wyselekcjonowane zwierzęta o dużej i małej preferencji do alkoholu. Szczury WHP (Warsaw High Preferring) i WLP (Warsaw Low Preferring) opracowane w Zakładzie Farmakologii, Instytutu Psychiatrii i Neurologii stanowią tę nieliczną grupę specjalnych linii szczurów pijących spontanicznie duże i małe ilości alkoholu etylowego.

STRESZCZENIE

Alkoholizm jako choroba manifestuje się utratą kontroli nad piciem, przymusem picia, zależnością somatyczną i psychiczną. Przedkliniczna ocena skuteczności jego leczenia najczęściej dokonuje się przy użyciu modeli zwierzęcych. W Zakładzie Farmakologii otrzymano wyselekcjonowane linie szczurów WHP (Warsaw High Preferring) pijące spontanicznie, co najmniej 5 g/kg/24h etanolu w wolnym wyborze z wodą. Linia WLP jest linią nisko preferującą alkohol pijąca mniej niż 2 g/kg/24h etanolu. Obie linie wykazują szereg behawioralnych i neurochemicznych różnic. Szczury WHP piją znacznie więcej alkoholu w godzinach nocnych w porównaniu do szczurów WLP. Szczury WHP piją znacznie więcej słodkich substancji w postaci 5, 10, 30% roztworu sacharozy lub 0,1% sacharyny w porównaniu do szczurów WLP. Badania wykazały, że fenotypy nadmiernego spożycia alkoholu (linia WHP) i spożycia najmniejszego (linia WLP) są dobrze utrwalone w pokoleniach F_{23-24} . Istnieje znamienna korelacja między ilością pitego alkoholu przez szczury linii WHP i WLP a wielkością wiązania znakowanego muscimolu w korze zakrętu obręczy. W przypadku braku uprzedniej ekspozycji na działanie alkoholu brak jest różnic w wiązaniu tego samego związku.

Stężenie dopaminy (DA) i jej metabolitów (DOPAC, HVA) było znamienne zmniejszone w obrębie prążkowiec u szczurów WHP w porównaniu do szczurów WLP. Również u szczurów WHP wystąpiła bardzo wyraźna stymulacja aktywności ruchowej po podaniu parenteralnym etanolu w dawce 0,5 g/kg. Naltrekson w sposób dawkozależny zmniejsza picie etanolu u szczurów WHP.

Słowa kluczowe: szczury WHP, WLP, etanol, preferencja do etanolu.

PIŚMIENNICTWO

1. Abel R. L.: *The role of dietary fat in alcohol's prenatal effects*. Alcohol, 2000, 20, 83-86.
2. Allan A. M., Harris R.A.: *Neurochemical studies of genetic differences in alcohol action*. W: Czube J., Harris R.A. (red.): *The genetic basis of alcohol and drug actions*. Plenum Press, New York, 1991, 105-152.

3. Bachmanov A.A., Tordoff M.G., Beauchamp G.K.: *Ethanol consumption and taste preferences in C57BL/6ByJ and 129/J mice*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1996, 20, 201-206.
4. Bisaga A., Kostowski W.: *Selective breeding of rats differing in voluntary ethanol consumption*. Pol. J. Pharmacol. 1993, 45, 431-436.
5. Bonthius D. J., West J. R.: *Permanent neuronal deficit in rats exposed to alcohol during the brain growth spurt*. Teratology. 1991, 44, 147-163.
6. Chen F., Rezvani A., Jarrot B., Lawrence A.J.: *Alcohol Intake and brain [³H]zolpidem binding in alcohol-preferring rats and non-preferring rat brain*. Neurosci. Lett. 1997, 238, 103-106.
7. Crabbe J. C.: *Sensitivity to ethanol in inbred mice: Genotypic correlations among several behavioral responses*. Behav. Neurosci. 1983, 97, 280-289.
8. Criswell H.E., Simson P.E., Duncan G. E., McCown T.J., Herbert J.S., Morrow A.L., Breese G.R.: *Molecular basis for regionally specific action of ethanol on gamma-aminobutyric acid A receptors: generalization to other ligand-gated ion channels*. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993, 267, 522-537.
9. Dibattista D., Joachim D.: *Dietary energy shortage and ethanol intake in golden hamsters*. Alcohol. 1998, 15, 55-63.
10. DiChiara G., Imperato A.: *Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentration in the mesolimbic system of freely moving rats*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 5274-5278.
11. Dyr W., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K., Murphy J.M.: *Effects of D₁ and D₂ dopamine receptor agents on ethanol consumption in the high-alcohol-drinking (HAD) line of rats*. Alcohol. 1993, 10, 207-212.
12. Dyr W., Witanowska A., Dzierzkowska J., Iwińska K., Krząścik P., Kostowski W.: *Biochemiczna i behawioralna analiza nowej linii szczurów wyselekcjonowanych w kierunku wysokiego spożycia alkoholu etylowego*. Alkoholizm i Narkomania. 1998, nr 1(30), 19-27.
13. Dyr W., Siemiątkowski M., Płażnik A., Bidziński A., Kostowski W.: *Alcohol Intake and brain [³H] Muscimol binding sites in alcohol-preferring rats*. Pol. J. Pharmacol. 1999, 51, 119-123.
14. Dyr W., Krząścik P., Dudek K., Witanowska A., Dzierzkowska J., Kostowski W.: *Nowa linia szczurów Wistar selekcjonowanych w kierunku nadmiernej preferencji alkoholu: charakterystyka behawioralna*. Alkoholizm i Narkomania, 1999, nr 4 (37), 525-534.
15. Dyr W., Kostowski W.: *Animal model of ethanol abuse: rats selectively bred for high and low voluntary alcohol intake*. Acta Polonica Pharmaceutica, 2000, 57. Supl, 90-92.
16. Dyr W., Kostowski W.: *Wyselekcjonowane Linie WHP i WLP szczurów laboratoryjnych: Utrwalone różnice fenotypu w zakresie wielkości spożycia alkoholu*. Alkoholizm i Narkomania, 2002, 15, 59-69.
17. Dyr W., Siemiątkowski M., Krząścik P., Bidziński A., Płażnik A., Kostowski W.: *Neurotransmitter levels and [³H] Muscimol binding sites in the brain of rats selectively bred for alcohol preference and non-preference*. Pol. J. Pharmacol. 2002, 54, 225-230.
18. Dyr W., Kostowski W.: *Behavioral characteristics of WHP and WLP lines of rats selected for the high and low preference of ethanol*. Pol. J. Pharmacol. 2002, 54, 540.
19. Eriksson K.: *Genetic selection for voluntary ethanol consumption in the albino rat*. Science. 1968, 159, 739-741.

20. Fadda F., Mosca E., Colombo G., Gessa G.L.: *Effect of spontaneous ingestion of ethanol on brain dopamine metabolism*. Life Sci. 1989, 44, 281-287.
21. Frye G. D., Breese G. R.: *An evaluation of the locomotor stimulating action of ethanol in rats and mice*. Psychopharmacology. 1981, 75, 372-379.
22. Gatto G. J., Murphy J. M., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K. *Intracranial self-administration of ethanol into the ventral tegmental area of alcohol-preferring (P) rats*. Alcohol. Clin. Exp. Res. 1990, 14, 291.
23. Gessa G. L., Mutoni F., Collu M., Vargin L., Mereu G.: *Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area*. Brain Res. 1985, 348, 201-203.
24. Gongwer M., Murphy J., McBride W., Lumeng L., Li T-K. *Regional brain contents of serotonin, dopamine and their metabolites in the selectively bred high-and-low drinking lines of rats*. Alcohol. 1989, 6, 317-320.
25. Grant K. A.: *Emerging neurochemical concept in the action of ethanol at ligand-gated ion channels*. Behav. Pharmacol. 1994, 5, 383-404.
26. Grill H.J.: *Introduction: Physiological mechanisms in conditioned taste aversion*. N.Y. Acad. Sci. 1985, 443, 67-88.
27. Honkanen A., Ahtee L., Korpi E.R.: *Voluntary alcohol drinking selectively accelerates dopamine release in the ventral striatum as reflected by 3-methoxytyramine levels*. Brain Res. 1997, 774, 207-210.
28. Hunt W.A.: *The effect of ethanol on GABAergic transmission*. Neurosci. Biobehav. Rev. 1983, 7, 87-95.
29. Kiefer S.W., Hill K.G., Kaczmarek H.J.: *Taste reactivity to alcohol and basic tastes in out-bred mice*. Alcohol. Clin. Exp. Res., 1998, 22, 1146-1151.
30. Kiefer S.W.: *Alcohol, palatability, and taste reactivity*. Neurosci. Biobehav. Rev. 1999, 19, 133-141.
31. Koob G. F., Bloom F.E.: *Cellular and molecular mechanisms of drug dependence*. Science. 1988, 242, 715-723.
32. Korpi E.: *Role of GABA-A receptors in the actions of alcohol and alcoholism: recent advances*. Alcohol Alcohol. 1994, 29, 115-120.
33. Leonard B. E., Wiseman B. D.: *The effect of ethanol and amphetamine mixtures on the activity of rats in a Y-maze*. J. Pharm. Pharmacol. 1970, 22, 967-968.
34. Li T.-K., Lumeng L., McBride W.J., Waller M.B., Hawkins D. T.: *Progress towards a voluntary oral consumption model of alcoholism*. Drug Alc. Depend. 1979, 4, 45-60.
35. Liljequist S., Engel J.: *The effects of GABA and benzodiazepine receptor antagonists on the anticonflict actions of diazepam or ethanol*. Pharmacol. Biochem. Behav. 1984, 21, 525.
36. Lumeng L., Waller M.B., McBride W.J., Li T.-K.: *Different sensitivities to ethanol in alcohol-preferring and -nonpreferring rats*. Pharmacol. Biochem. Behav. 1982, 16, 125-130.
37. Mardones J., Segovia-Riquele N.: *Thirty-two years of selection of rats for ethanol preference: UChA and UchB strains*. Neurobehav. Toxicol. Teratol. 1983, 5, 171-178.
38. Mason S.T., Corcoran M. E., Fibiger H. C.: *Noradrenergic processes involved in the locomotor effects of ethanol*. Eur. J. Pharmacol. 1979, 54, 383-387.

39. Murphy J., McBride W., Lumeng L., Li T-K.: *Monoamine and metabolite levels in CNS regions of the P line of alcohol-preferring rats after acute and chronic ethanol treatment.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1983, 19, 849-856.
40. Murphy J., McBride W., Lumeng L., Li T-K.: *Contents of monoamine in forebrain regions of alcohol-preferring (P) and nonpreferring (NP) lines of rats.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1987, 26, 389-392.
41. Phillips T. J., Crabbe J. C.: *Behavioral studies of genetic differences in alcohol action.* W: Crabbe J.C., Harris R.A. (red.): *The genetic basis of alcohol and drug actions.* Plenum Press, New York, 1991, 25-104.
42. Thielen R. J., McBride W. J., Chernet E., Lumeng L., Li T-K.: *Regional densities of benzodiazepine sites in the CNS of alcohol-naïve P and NP rats.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1997, 57, 875-882.
43. Ticku M. K., Burch T. P., Davis W. C.: *The interaction of ethanol with the benzodiazepine GABA receptor-ionophore complex.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1983, 18, 15-18.
44. Seevers M.H.: *Psychopharmacological elements of drug dependence.* JAMA, 1968, 206, 1263-1266.
45. Waller M. B., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K.: *Initial sensitivity and acute tolerance to ethanol in the P and NP lines of rats.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1983, 19, 683-686.
46. Waller M. B., Murphy J. M., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K.: *Effect of low dose ethanol on spontaneous motor activity in alcohol-preferring and nonpreferring lines of rats.* Pharmacol. Biochem. Behav. 1986, 24, 617-623.
47. Wong G., Ovasaka T., Korpi R.: *Regional differences in GABA-A ligand binding in AA and ANA rats.* Addict. Biol. 1996, 1, 263-272.
48. Yoshimoto K., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K.: *Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens.* Alcohol. 1992, 9, 17-22.
49. Yoshimoto K., McBride W. J., Lumeng L., Li T-K.: *Ethanol enhances the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens of HAD and LAD rats.* Alcohol. Clin. Exp. Res. 1992, 16, 781-185.