

УДК 577.115.3:612.66:591.139

ББК 54.1

В.А. КОЗЛОВ, Н.А. ШУМИЛОВА, С.П. САПОЖНИКОВ,  
В.А. КИЧИГИН, И.С. САНДАЛОВ, Л.Д. ЖЕЛОНКИН

## К ВОПРОСУ О ФОРМАЛИЗАЦИИ ПИТЬЕВОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ ЭТАНОЛА У КРЫС

**Ключевые слова:** крысы-самцы, этанол, питьевое предпочтение, относительный коэффициент потребления этанола.

Рассмотрены вопросы питьевого предпочтения вода/этанол в случайной выборке самцов крыс. Предложен новый показатель оценки предпочтения потребления алкоголя – относительный коэффициент потребления этанола, согласно которому подопытная популяция была распределена на пять групп: не употребляющие (3,5% животных), умеренно употребляющие (19,8%), употребляющие (51,1%), злоупотребляющие (23,3%), предпочитающие (2,3%). Сделан вывод, что распределение подопытной популяции крыс по потреблению 5%-ного этанола близко к нормальному. Исходя из типа распределения следует, что склонность к потреблению алкоголя определяется генетически – конституциональными особенностями.

**V. KOZLOV, N. SHUMILOVA, S. SAPOZHNIKOV, V. KICHIGIN, I. SANDALOV, L. ZHELONKIN  
TO THE QUESTION ABOUT DRINKING THE ETHANOL PREFERENCE IN RATS**

**Key words:** rats, ethanol, drinking preference, the Ethanol consumption relative ratio.

The drinking preferences of water/ethanol issues considered in a male rats random sample. We propose a new measure to assess the preferences of alcohol consumption – «the Ethanol consumption relative ratio», according to which the experimental population was divided into five groups: non-drunk (3,5% of the animals), moderate drunk (19,8%) who drunk (51,1%), abuse (23,3%), heavy drunk (to 2,3%). It is concluded, in consumption of 5% ethanol the rat's experimental population the distribution is close to normal. Based on the distribution implies type: the propensity to consume alcohol is genetically determined constitutional peculiarities.

Потребление алкоголя *a priori* считается социально значимым явлением, характерным для вида *Homo sapiens*. Тем не менее механизмы формирования алкогольной зависимости изучаются на лабораторных крысах, а полученные результаты интерпретируются как свойственные людям [1]. Между тем считают, что сопоставление алкоголизма человека с алкогольной зависимостью, формируемой у животных, является трудновыполнимой задачей [4]. В проведенных ранее другими авторами исследованиях на лабораторных крысах мы не нашли убедительных методик ранжирования животных по степени предпочтения этанола. Как правило, в эксперимент берутся животные, прошедшие период принудительной алкоголизации в течение не менее трех недель, у которых была выявлена склонность к потреблению алкоголя [3], тогда как данные об алкогольном предпочтении в интактной популяции не приводятся.

**Цель исследования** – оценка питьевого предпочтения (вода/этанол) в условиях свободного доступа к воде и этанолу с последующей формализацией полученных результатов.

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент проведен на 86 самцах крыс массой 280-300 г. Животных содержали в виварии в стандартных условиях освещения и питания. Исследования осуществляли в соответствии с Принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009). Животных в эксперимент отбирали случайным образом в соответствии с рекомендациями [5]. После лишения воды в течение суток крыс высаживали в обменные клетки, где им на выбор предлагалась вода либо 5%-ный раствор этилового спирта. Объем потребления жидкостей фиксировали в течение первых трех часов высадки. Всего проведено 27 высадок. В день высадки после ее окончания крысы имели свободный доступ к воде до начала следующего рабочего дня, когда высадку повторяли. В качестве статистической величины, отражающей предпочтение к употреблению воды или этанола,

был выбран искусственный показатель – относительный коэффициент потребления этанола (ОКЭ), который вычисляли по формуле

$$\text{ОКЭ} = \frac{V_{\text{Э}}}{V_{\text{В}} + V_{\text{Э}}},$$

где  $V_{\text{Э}}$  – объем потребления этанола,  $V_{\text{В}}$  – объем потребления воды.

ОКЭ рассчитывали для каждого случая, полученные для каждого животного коэффициенты были усреднены за 27 дней высаживания крыс в обменные клетки. Полученные средние величины были использованы для ранжирования подопытных животных на пять групп (табл. 1).

Таблица 1

**Группы крыс по ОКЭ**

Группа	ОКЭ	Название группы с учетом ОКЭ
1	0	не употребляющие алкоголь
2	от 0,01 до 0,3	мало употребляющие алкоголь (употребляющие в малых дозах)
3	от 0,31 до 0,74	умеренно употребляющие алкоголь (употребляющие в умеренных дозах)
4	от 0,75 до 0,89	«злоупотребляющие» алкоголем (употребляющие в больших дозах)
5	от 0,9 до 1,0	чрезмерно «злоупотребляющие» алкоголем (употребляющие в чрезмерно больших дозах)

В целях исключения эффекта неработающей поилки все поилки перед экспериментом были проверены на работоспособность. После каждого эксперимента поилки отмывали и меняли случайным образом.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли по методу Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Предлагаемый нами способ оценки предпочтения потребления этанола основан на следующем свойстве относительных величин: чем меньше потребление этанола, тем ближе к «0» предлагаемый коэффициент. Это помогает преодолеть значительные различия индивидуального потребления жидкостей в выборке, обусловленные различиями массы животного и эффективности системы выделения, а также различиями условий содержания и т.п. Предлагаемый показатель меняется в диапазоне от 0 до 1, что хорошо стандартизирует результаты экспериментов с любым дизайном и позволяет легко ранжировать экспериментальную группу на подгруппы по величине коэффициента как экспертным путем (см. табл.), так и принятыми методами статистического ранжирования при наличии достаточно большой группы подопытных животных. Соответственно, предлагаемый ОКЭ легко ранжируется, что позволяет использовать этот показатель как статистическую величину для параметрических и непараметрических статистик.

В известной нам научной литературе используются различные способы формализации алкогольной зависимости. Так, например, в работе [3] предлагаются два коэффициента: 1) отношение (объем потребленного алкоголя)/(объем потребленной воды) и 2) индекс относительного потребления алкоголя для каждого животного как отношение количества раствора этанола, потребленного подопытными животными, к объему алкоголя, потребленного контрольными животными. Оба показателя сильно зависят от условий эксперимента (различия массы животных, колебания температуры в виварии в зависимости от времени года, эффективности отопления и вентиляции, влажности воздуха, состава и влажности кормов, времени непосредственного взаимодействия с экспериментатором и персоналом вивария и т.п.). Выраженная зависимость потребления этанола от условий содержания животных показана в работе [6], где была установлена зависимость результатов эксперимента от получения предпочтаемого

корма (снижало потребление алкоголя у инбредных мышей всех испытанных авторами генотипов), наличия в клетке гнездостроительного материала (уменьшало склонность к этанолу у мышей линий C57BR и TPS, но увеличивало у мышей линии C3HA). Оба фактора не влияли на потребление этанола у мышей линий CBA/Lac, WR, BALB/c. Авторы делают следующий вывод: «Изменчивость свободного потребления алкоголя определяется в первую очередь генотипом животного, поскольку генетически детерминированная межлинейная вариабельность по данному признаку превышает внутрилинейную, обусловленную неконтролируемыми (курсив наш. – Авт.) флуктуациями среды и физиологического состояния организма [6].

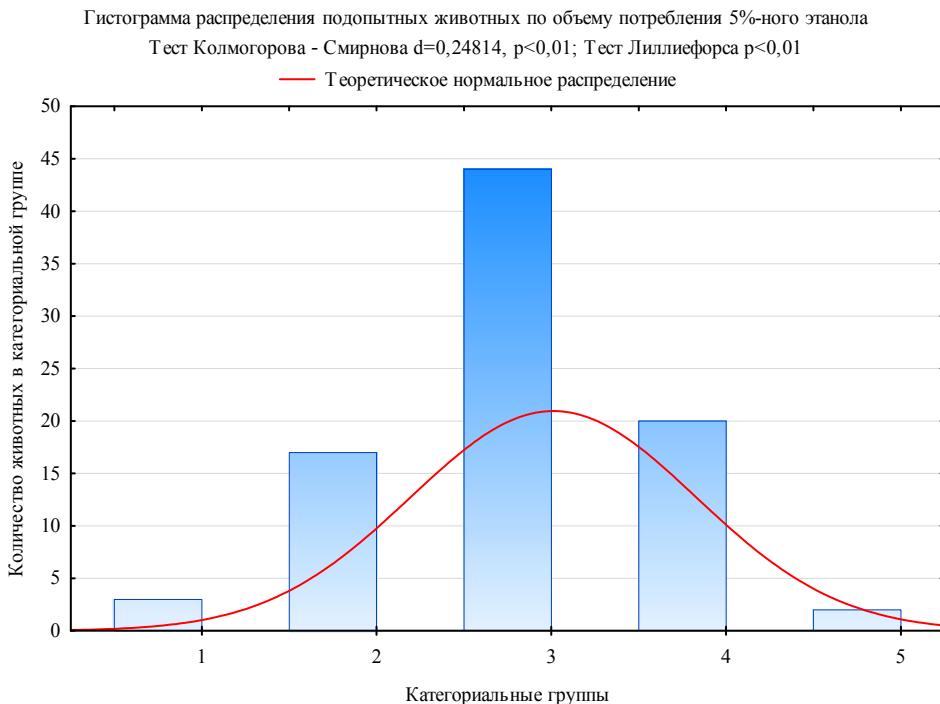
Второй показатель статистически некорректен, поскольку основан на субъективном попарном сопоставлении животных в опыте, где попарно связанных выборок не может быть по определению. Кроме того, предлагается способ выражения потребления в виде «выраженной в процентах доли потребленного этанола от общего объема потребленной жидкости» [6], что близко к предлаляемому нами способу формализации данных. Но данный прием некорректен с точки зрения математики – усредняются результаты, выраженные в процентах, при этом не учитывается, что цена одного процента в реальных объемах потребления жидкостей различается как у отдельных животных, так и у одного и того же животного в разные дни эксперимента. То есть авторы не учли, что индивидуальные результаты, выражаемые в относительных величинах при сравнении как внутри групп, так и между группами, не вполне сопоставимы. Приведенные примеры свидетельствуют, что проблема адекватной математической формализации степени алкоголизации подопытных животных в опытах с питьевым предпочтением актуальна и в целом не решена.

В результате использования предлагаемого нами статистического приема экспериментальная группа к концу эксперимента распределилась следующим образом: 3,5% животных (три крысы) не потребляли алкоголь совсем; 19,8% (17 животных) предпочитали воду, средний ОКЭ = 0,18 (диапазон 0,02–0,27); 51,1% (44 животных) воду и 5%-ный этанол употребляли примерно в одинаковых количествах, средний ОКЭ = 0,48 (диапазон 0,3–0,64); 23,3% предпочитали 5%-ный этанол, средний ОКЭ = 0,76 (диапазон 0,65–0,88); 2,3% животных воду практически не потребляли, средний ОКЭ = 0,94 (диапазон 0,9–0,96). Полученные данные представлены на гистограмме распределения.

Из анализа гистограммы следует, что распределение животных по предпочтению к потреблению 5%-ного этанола имеет колоколообразный характер, но согласно тесту Колмогорова – Смирнова, с поправкой Лиллиефорса отличается от теоретического нормального за счет большего представительства третьей группы, на которую пришлось практически 52% животных.

Из полученных результатов следует, что популяция интактных крыс, отобранных в эксперимент случайным образом, по предлагаемому нами относительному коэффициенту потребления этанола легко делится на пять групп. Наибольший интерес представляют животные, не потреблявшие алкоголь в условиях предшествующей депривационной жажды, и животные, в тех же условиях предпочитавшие алкоголь воде. Количественный состав этих групп практически одинаков. Также практически одинаков состав групп с умеренным потреблением (вторая группа) и « злоупотребляющие» (четвертая группа). Поскольку у лабораторных крыс нет социальных основ потребления алкоголя, то из полученных нами данных следует, что потребление алкоголя регулируется индивидуальными биологическими особенностями подопытных животных. Очевидно, что эти особенности генетически детерминированы, а генетические детерминанты реализуются через биохимическую неоднородность популяции, отобранной в эксперимент. Например, получены данные о связи предрасположенности к алкоголизму

с аллелями генов провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  [9]. На преобладание генетических аспектов алкоголизма над социальными указывают и другие авторы [8]. Кроме того, установлено, что алкоголизм может формироваться в результате полиморфизма некоторых генов (TRPV1, TAS2Rs) [7].



Гетерогенность случайно отобранных популяций крыс по отношению к предпочтению вода/этанол в условиях свободного доступа и выбора питья с предложением растворов этанола различной концентрации (5%, 10% и 15%) как без предварительного месячного принуждения потребления только водного раствора этанола в качестве единственного источника воды, так и с полной заменой воды на раствор этанола отмечается и другими авторами [1]. Очевидно, что гетерогенность популяции обусловлена индивидуальными генетическими особенностями метаболизма.

Кроме того, полученные данные явно свидетельствуют о наличии индивидуальной нормы потребления алкоголя. Это обстоятельство подтверждает необходимость внедрения в торговую практику дозирования алкоголя, так как это делается в Европе. Практика дозирования была создана после выяснения, что люди по количеству потребления алкоголя делятся на четыре группы (табл. 2). При этом статут потребления хорошо коррелирует с абсолютной дозой (drink) алкоголя, тогда как объем потребления сильно зависит от крепости алкоголя.

Из полученных и процитированных нами данных неизбежно следует вывод – социальные аспекты потребления алкоголя значительно гипертрофированы в ущерб биологическим. Данное обстоятельство оказывает негативное влияние на пути и методы профилактики и лечения алкоголизма. Запрет на продажу алкогольных напитков народам Севера России, введенный Николаем II, был абсолютно адекватен, но в историческом аспекте, к сожалению, оказался несостоя-

тельным, как и антиалкогольные кампании в США в 30-х гг. и в СССР в 80-е гг. XX в. Лечение уже сформировавшегося алкоголизма, как показывает опыт многих десятилетий, в целом является бесперспективным. Но в связи с наличием доказательств биологической детерминированности этого явления возможен путь профилактики, направленный на активное раннее выявление лиц, имеющих метаболический статус, свойственный угрожаемым по развитию алкоголизму в целях раннего формирования у них средствами диетотерапии или/и фармакотерапии метаболического статуса, свойственного лицам, не склонным к употреблению алкоголя.

Таблица 2

**Частотно-количественные показатели потребления алкоголя  
(по данным зарубежной литературы)**

Группа	Абстиненты	Умеренное потребление	Злоупотребление	
			«кутежное пьянство»	чрезмерное потребление
Мужчины	не пьют совсем либо несколько раз в год не больше 2-3 доз* за один раз для мужчин, 1-2 дозы для женщин	2-4 дозы за один раз, но не более 14-21 доз в неделю	≥ 5 доз за один раз, >14-21 дозы в неделю	> 50 доз в неделю
Женщины		1-3 дозы за один раз, но не более 7 доз в неделю	≥ 4 дозы за один раз, > 7 доз-14 доз в неделю	> 35 доз в неделю

Примечание. \*1 доза (drink=unit): бутылка (350 мл) пива 4-5°, бокал (140 мл) сухого (12-13°) или крепленого вина (75 мл), крепкие спиртные напитки (40°) 40 мл, стакан коктейля с алкоголем [2].

**Выводы.** 1. Распределение подопытной популяции крыс по потреблению 5% этанола близко к нормальному.

2. Исходя из типа распределения следует, что склонность к предпочтению потребления этанола определяется генетически – конституциональными особенностями.

3. Предлагаемый нами относительный коэффициент потребления этанола является удобным методом оценки выраженности алкогольной зависимости и ранжирования групп в экспериментах по изучению алкогольной мотивации.

### Литература

- Бардина Л.Р., Сатановская В.И. Метаболическая адаптация к алкоголю у крыс, различающихся по предпочтению этанола воде // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 1999. Т. 456, № 2. С. 117–122.
- Голенков А.В. Опыт преподавания вопросов алкоголизма студентам-медикам // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2013. Т. 113, № 6-2. С. 75–79.
- Зубарева О.Е., Лебедев А.А., Симбирцев А.С., Клименко В.М., Шабанов П.Д. Модуляция интерлейкином-1β потребления этанола у крыс с разным уровнем его предпочтения // Наркология. 2007. № 11. С. 14–16.
- Сабоненко А.В. Экспериментальное изучение психического влечения к алкоголю у крыс линии Вистар и некоторые цитохимические корреляты этого состояния: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 1994. 24 с.
- Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Онищенко Ф.А. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / под ред. И.М. Трахтенberга. М.: Медицина, 1991. 208 с.
- Шмидт Е.Ф. Изменчивость предпочтения алкоголя у лабораторных мышей в зависимости от генотипа и среды // Биомедицина. 2005. № 1. С. 81-87.
- Allen A.L., McGahey J.E., Hayes J.E. Polymorphisms in TRPV1 and TAS2Rs associate with sensations from sampled ethanol. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2014, vol. 38, no. 10, pp. 2550–2560.
- Barkley-Levenson A.M., Crabbe J.C. Bridging Animal and human models Translating From (and to) Animal Genetics. *Alcohol Research. Current Reviews*, 2012, vol. 34, № 3, pp. 325–335.
- Pastor I.J., Laso F.J., Romero A., Gonzalez-Sarmiento R. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and alcoholism in Spanish men. *Alcohol Alcohol*, 2005, vol. 40, № 3, pp. 181–186.

### References

1. Bardina L.R., Satanovskaya V.I. *Metabolicheskaya adaptaciya k alkogolyu u krys, razlichayushhihsya po predpochteniyu yetanola vode* [Metabolic adaptation to alcohol in rats that differ in ethanol preference water]. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoy i farmacevticheskoy himii* [Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry], 1999, vol. 45b, no. 2, pp. 117–122.
2. Golenkov A.V. *Opyt prepodavanija voprosov alkogolizma studentam-medikam* [Experience of teaching issues of alcoholism medical students]. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii im. S.S. Korsakova* [Journal of neurology and psychiatry. S.S. Korsakov], 2013, vol. 113, no. 6-2, pp. 75–79.
3. Zubareva O.E., Lebedev A.A., Simbircev A.S., Klimenko V.M., Shabanov P.D. *Modulyaciya interleykinom-1β potrebleniya yetanola u krys s raznym urovнем ego predpochteniya* [Modulation of interleukin-1β consumption of ethanol in rats with different levels of preference]. *Narkologiya* [Narcology], 2007, no. 11, pp. 14–16.
4. Sabonenko A.V. *Yeksperimental'noe izuchenie psihicheskogo vlecheniya k alkogolyu u krys linii Vistar i nekotorye citohimicheskie korrelyaty yetogo sostoyaniya: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk* [Experimental study of the mental craving for alcohol in rats of the Vistar line and some cytochemical correlates of this state. Abstract of PhD thesis]. Moscow, 1994, 24 p.
5. Trahtenberg I.M., Sova R.E., Sheftel' V.O., Onikienko F.A. *Problemy normy v toksikologii (sovremennoe predstavleniya i metodicheskie podkhody, osnovnye parametry i konstanty)* [Problems in toxicology (modern concepts and methodological approaches, basic parameters and constants)]. Moscow, Medicina Publ., 1991, 208 p.
6. Shmidt E.F. *Izmenchivost' predpochteniya alkogolya u laboratornyh myshey v zavisimosti ot genotipa i sredy* [Variation in alcohol preference in laboratory mice, depending on the genotype and the environment]. *Biomedicina* [Biomedicine], 2005, no. 1, pp. 81–87.
7. Allen A.L., McGahey J.E., Hayes J.E. Polymorphisms in TRPV1 and TAS2Rs associate with sensations from sampled ethanol. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 2014, vol. 38, no. 10, pp. 2550–2560.
8. Barkley-Levenson A.M., Crabbe J.C. Bridging Animal and human models Translating From (and to) Animal Genetics. *Alcohol Research. Current Reviews*, 2012, vol. 34, № 3, pp. 325–335.
9. Pastor I.J., Laso F.J., Romero A., Gonzalez-Sarmiento R. Interleukin-1 gene cluster polymorphisms and alcoholism in Spanish men. *Alcohol Alcohol*, 2005, vol. 40, № 3, pp. 181–186.

**КОЗЛОВ ВАДИМ АВЕНИРОВИЧ** – доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор кафедры медицинской биологии с курсами микробиологии и вирусологии, Чувашский государственный университет, Чебоксары (pooh12@yandex.ru).

**KOZLOV VADIM** – Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Medical Biology with the Microbiology and Virology Course, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**ШУМИЛОВА НАДЕЖДА АЛЕКСАНДРОВНА** – старший преподаватель кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

**SHUMILOVA NADEZHDA** – Assistant Professor, Department of Farmacology, Clinical Farmacology and Biochemistry, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**САПОЖНИКОВ СЕРГЕЙ ПАВЛОВИЧ** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биологии и микробиологии, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (adaptogon@mail.ru).

**SAPOZHNIKOV SERGEY** – M.D., Professor, Head of Biology and Microbiology Department, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**КИЧИГИН ВАДИМ АЛЕКСАНДРОВИЧ** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии № 1, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары (vadim-kichigin@mail.ru).

**KICHIGIN VADIM** – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Hospital Therapy Department № 1, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**САНДАЛОВ ИВАН СЕРГЕЕВИЧ** – студент II курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

**SANDALOV IVAN** – student, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.

**ЖЕЛОНКИН ЛУКА ДМИТРИЕВИЧ** – студент II курса медицинского факультета, Чувашский государственный университет, Россия, Чебоксары.

**ZHELONKIN LUKA** – student, Chuvash State University, Cheboksary, Russia.