УДК 57.024+591.512.16+612.821.44+615.31

О. Бондаренко, асп.
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,
Н. Гула, д-р біол. наук
Институт біохімії ім. О.В. Паладіна НАН України, Київ,
М. Макарчук, д-р біол. наук
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,
Т. Горідько, канд. біол. наук
Институт біохімії ім. О.В. Паладіна НАН України, Київ

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ НА РІВЕНЬ ТРИВОЖНОСТІ АЛКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ

Досліджували поведінку (рівень тривожності) щурів в хрестоподібному припіднятому лабіринті (ХПЛ) в нормі, після вживання алкоголю, а також при вживанні алкоголю і введенні на його фоні N-стеароїлетаноламіну (NSE) в дозі 0.1 та 5 мг/кг. Виявлено, що NSE в обох досліджуваних дозах змінює поведінку алкоголізованих щурів. З'ясовано, що 30-ти денна хронічна алкоголізація зменшує тривожно-подібну поведінку та емоційну активність в ХПЛ. При цьому у щурів, які на фоні алкоголю отримували NSE, анксіолітичний ефект, викликаний алкоголем, зменшується. Вплив NSE на досліджувані форми поведінки виявляв просту лінійну залежність, він був тим більшим, чим більшою була доза NSE.

Ключові слова: N-стеароїлетаноламін, алкоголь, хрестоподібний припіднятий лабіринт, тривожність.

Вступ. Наявні натепер клінічні та доклінічні спостереження дозволяють обґрунтовано стверджувати про наявність взаємозв'язку між стресом, тривожністю та алкоголізмом [1-4]. Все ж, незважаючи на наявні докази взаємозв'язку між тривожністю та розладами, які викликані вживанням алкоголю [2, 5, 6], етіологічний характер цього зв'язку не зовсім зрозумілий. Спостереження за хворими та експериментальні дослідження на тваринах показали, що гострий вплив низьких та помірних доз етанолу виявляє переважно анксіолітичну дію [2, 7], тоді як хронічне вживання етанолу та абстиненція здатні призводити до стійкого збільшення рівня тривожності [3, 8, 9]. При цьому було з'ясовано, що хронічне вживання етанолу здатне підвищувати рівень ендогенних лігандів канабіноїдних рецепторів, анандаміду (AEA), в клітинах нейробластоми (10) та викликає зростання рівня ендоканабіноїдів в мозку [11].

Загалом експериментальні дослідження дозволяють стверджувати, що ендоканабіноїдна система мозку здатна модулювати протікання різних видів стресу та тривожно-подібної поведінки [12,13]. Разом з тим застосування агоністів CB1 рецепторів здатне викликати протилежні ефекти. Так при застосуванні низьких доз виявляється переважно анксіолітична дія, тоді як високі дози, як правило, справляють анксіогенний вплив [12]. Крім того було з'ясовано, що одна й та сама доза дельта 9-тетрагідроканнабінолу може виявляти анксіолітичну дію при введенні в префронтальну кору та анксіогенну при її мікроінєкції в базолатеральну мигдалину [14]. Подібні біполярні ефекти канабіноїдів були продемонстровані не лише на тваринних моделях тривожності [15, 16], але й спостерігаються у людини. У деяких курців коноплі можуть посилюватися негативні відчуття – від різного рівня тривоги аж до панічних нападів [17]. Вживання ж тетрагідроканабінолу взагалі здатне призводити до станів, які нагадують собою великі психози [18]. Схожі бімодальні відповіді були зареєстровані і при використанні антагоністів CB1 рецепторів та інших препаратів, які блокують нормальне функціонування ендоканабіноїдної системи мозку [15]. Найкраще вивченим серед ендоконабіноїдів являється анандамід. Дана сполука синтезується "на вимогу" та інактивується ферментом амід-гідролазою жирних кислот [19, 20]. Після інгібування амід-гідролази жирних кислот у мозку підвищується рівень анандаміду та знижується стрес-залежна поведінка як у щурів, так і у мишей [21, 22]. На противагу цьому, фармакологічна блокада канабіноїдних CB1 рецепторів посилює тривожну поведінку в хрестоподібному припіднятому лабіринті (ХПЛ) [23, 24] та в чорно-білій камері [25]. Миші, позбавлені CB1 рецепторів, схильні до тривожно- та депресивно-подібної поведінки [26, 27]. Взаємозв'язок між інтенсивністю вживання коноплі та тривожністю і афективними розладами був описаний і в людини [28]. Загальний висновок, який умовно можна зробити зі складної та часто суперечливої літератури є таким, що інгібування ендоканабіноїдної сигналізації збільшує стрес та тривожність, тоді як помірне пригнічення в ендоканабіноїдній сигналізації зменшує стрес та тривожність. Таким чином, ендоканабіноїдна система може грати провідну роль в модуляції емоційних реакцій нервовою системою.

Натепер показано, що у мозку одночасно з анандамідом синтезується низка інших N-ацилетаноламінів [29], функціональні властивості яких не цілком з'ясовані. Втім насиченим довголанцюговим N-ацилетаноламінам притаманна низька афінність до канабіноїдних рецепторів. Перспективним для досліджень вважається N-стеароїлетаноламін (NSE), який входить до групи N-ацилетаноламінів – ацильних похідних моноетаноламіну. Дана речовина виявляє певні канабіміметичні властивості, однак для нього не встановлено зв'язування з канабіноїдними рецепторами. В попередніх наших дослідженнях ми з'ясували, що NSE в дозі 5 мг/кг протягом 7 днів пригнічує локомоторну та вертикальну активність щурів та суттєво не впливає на показники емоційної активності [30]. Проте для сучасної фармакології вкрай важливим є встановлення мінімальної ефективної дози, адже фармакологічний ефект не завжди прямо пропорційно залежить від концентрації та дози речовини. Тому в даному експерименті ми вирішили застосувати дозу, яка в 50 разів менша за попередню і порівняти поведінку саме алкоголізованих щурів після введення NSE в дозі 5 мг/кг та 0,1 мг/кг.

Метою роботи була оцінка фізіологічної дії NSE в різних дозах на фоні хронічної 30-ти денної алкоголізації та виявлення можливості корегування N-стеароїлетаноламіном негативних наслідків хронічного вживання етанолу.

Матеріали та методи. Дослідження було проведено в умовах хронічного експерименту на 72 білих щурах-самцях масою 150-200 г. (на початку експерименту), що утримувались в стандартних умовах віварію з вільним доступом до води та їжі. Всі маніпуляції проводились у відповідності до біоетичних норм. Поведінку щурів оцінювали використовуючи ХПЛ, чорно-білу камеру та відкрите поле (ВП) [31, 32].

Поведінкові реакції щурів у відкритому полі та чорно-білій камері використовували для формування зрівноважених груп. Після тестування щури за всіма зареєстрованими показниками були поділені на 4 групи:

I група – "Контроль" (n=13) – інтактні тварини;

II група – "Алкоголь" (n=20) – щури з моделлю хронічної 30-ти денної АІ;

© Бондаренко О., Гула Н., Макарчук М., Горідько Т., 2014

III група – "Алк+NSE-0,1" (n=20) – щури, які останні 7 діб 30-ти денної алкоголізації отримували NSE в дозі 0,1 мг/кг;

IV група – "Алк+NSE-5" (n=19) – щури, які останні 7 діб 30-ти денної алкоголізації отримували NSE в дозі 5 мг/кг.

Тварин I, II та III групи утримували на стандартному раціоні віварію і вільному доступі до води та їжі. Тварини IV, V та VI групи протягом періоду введення алкоголю обмежувались в доступі до води, але без харчової депривації протягом всього експерименту.

Далі проводили хронічну алкоголізацію та введення досліджуваної речовини.

Хронічну алкогольну інтоксикацію (АІ) здійснювали в 2 етапи: на І етапі визначали схильність щурів до етанолу за допомогою "двопляшкового" методу. Тварин, які не мали до цього контакту з етанолом, саджали в індивідуальні клітки оснащені двома поїлками: одна з водою, інша з 15% розчином етанолу. Протягом цієї фази тварини впродовж 14 діб мали вільний вибір між розчином етанолу та водою. Раз на добу знімали показники індивідуального об'єму випитого спирту за одиницю часу (г/кг/добу) та відсоткове співвідношення випитого спирту до об'єму всієї рідини. В роботі [5] описано, що вроджена схильність до вживання етанолу має зв'язок з рівнем поведінкових реакцій, тому цей етап дозволив до початку 30-ти денної примусової алкоголізації зрівноважити щурів IV, V та VI групи не лише на основі поведінкових характеристик, а й за рівнем спонтанного споживання етанолу. На ІІ етапі проводили примусову алкоголізацію шляхом використання етанолу як єдиного джерела рідини впродовж 30 днів [36]..

Водні суспензії NSE (NSE було синтезовано в відділі біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАНУ) вводили тваринам інтрагастрально, використовуючи пластиковий зонд із розрахунку 0,1 та 5 мг/кг маси тіла, протягом останніх 7 днів хронічної 30-ти денної алкогольної інтоксикації. В попередніх наших дослідженнях [30] нами не виявлено жодних статистично значущих відмінностей в тесті ВП між тваринами інтактного контролю та тваринами, яким вводили воду через зонд, що вказує на відсутність впливу даної процедури на поведінкові реакції щурів.

Після закінчення алкоголізації та введення NSE проводили тестування тварин в ХПЛ. Тест ХПЛ в даному дослідженні використовувався як основний методичний прийом для оцінки рівня тривожності у щурів різних груп. Дослідження поведінки щурів та мишей в ХПЛ широко використовується в доклінічній оцінці терапевтичної ефективності можливих анксіолітиків [33-35]. Індуковане препаратами збільшення часу перебування у відкритих рукавах свідчить про анксіолітичний ефект, в той час як збільшення часу, проведеного в закритих рукавах свідчить про анксіогенний ефект. В даній установці ми протягом 5 хвилин реєстрували такі показники: час проведений у відкритих та закритих рукавах, час проведений в центрі, кількість заходів у відкриті та закриті рукава, кількість перетинань центральної платформи, кількість заглядань вниз та виглядань з центральної платформи, кількість та тривалість грумінгу, кількість стійок на стіну.

Для статистичного аналізу даних використовували програму Statistica for Windows 7.0 (StatSoft). За критерієм Шапіро-Вілка було визначено, що вибірки даних активності поведінки належать до ненормально розподілених. При ненормальному розподілі для порівняння незалежних вибірок кількісних даних (між групами) використовували критерій Манна–Уітні та представляли у вигляді медіани та 25 і 75 % квартилів. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Результати та їх обговорення. Тестування тварин у ХПЛ після завершення алкоголізації та введення NSE показало, що у щурів IV групи спостерігається тенденція до зменшення часу перебування у відкритих рукавах лабіринту (p=0,06) та статистично значуще збільшується час перебування в закритих рукавах лабіринту (p<0,05) порівняно з тваринами II групи (Рис.1.), що може свідчити про збільшення тривожно-подібної поведінки у щурів, які на фоні алкоголю отримувати NSE в дозі 5 мг/кг порівняно з тваринами, які отримували лише алкоголь. Важливим показником для оцінки ступеня ноофільності тварини являється співвідношення між часом перебування у відкритих/закритих рукавах, адже вважається, що чим більший цей показник тим більш ноофільною є тварина. В наших дослідженнях ми виявили статистично значуще зменшення даного показника у тварин IV групи (p<0,05) та тенденцію до зменшення у щурів III групи (p=0,08) порівняно з тваринами II групи (Рис.2.), що також може свідчити про певне посилення тривожності у тварин, яким вводили NSE на фоні алкоголю, в порівнянні з тваринами, які отримували лише алкоголь. Проте порівняння поведінки щурів, яким вводили NSE в обох дозах, з поведінкою контрольних тварин за всіма вище згаданими показниками не виявило ніякої різниці.

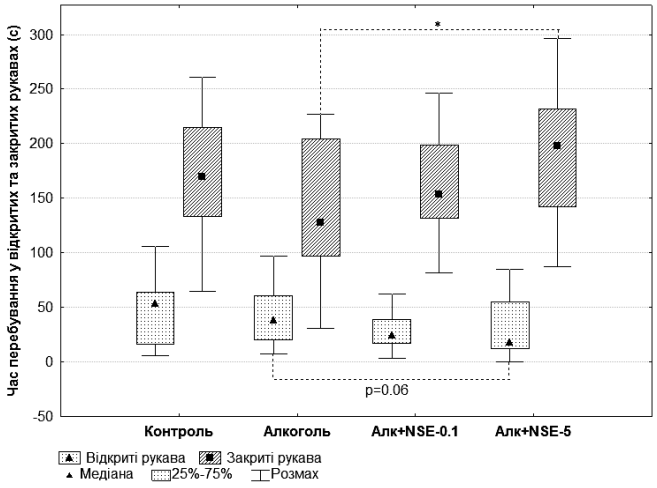

Рис.1. Час перебування у відкритих та закритих рукавах у щурів I-IV групи в хрестоподібному припіднятому лабіринті

Примітка: * – p<0,05.

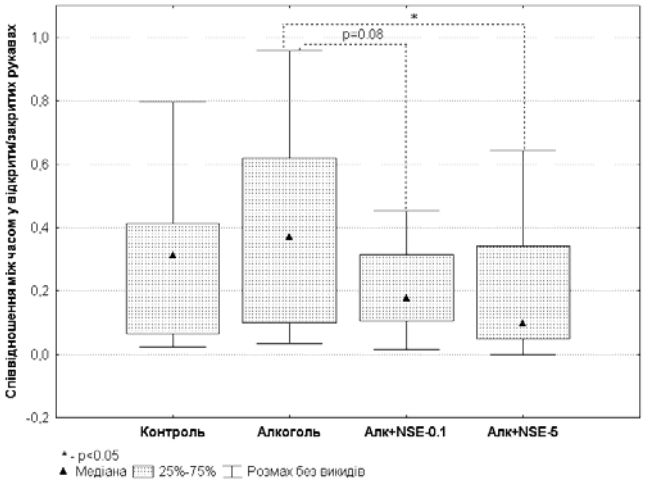

Рис.2. Співвідношення між часом перебування у відкритих та закритих рукавах у щурів I-IV групи в хрестоподібному припіднятому лабіринті

Що стосується часу перебування в центральній частині лабіринту, то у тварин III групи спостерігається тенденція до його збільшення порівняно з тваринами I групи (p=0,09). У щурів IV групи достовірних відмінностей порівняно з тваринами I групи немає, проте виявлена тенденція до зниження даного показника порівняно з тваринами III групи (p=0,09). Аналіз вертикальної активності тварин (кількість стійок на стіну) показав, що тварини, які отримували лише етанол, мають найвище значення даного показника порівняно з усіма іншими групами тварин. Кількість стійок на стіну у щурів II групи є статистично значуще більшою порівняно з тваринами III (p<0,01) та IV (p<0,05) групи та має тенденцію до зменшення порівняно з тваринами I групи (p=0,09), що може свідчити про зменшення емоційної напруги у щурів, які отримували лише етанол.

Що стосується кількості заходів у відкриті рукава (Рис.3.), то у тварин IV групи цей показник має тенденцію до зменшення порівняно з тваринами II групи (p=0,07). Крім того у щурів IV групи спостерігається тенденція до зменшення кількості перетинань центральної платформи лабіринту порівняно з тваринами I та II групи (p=0,07). Але ми не виявили достовірних відмінностей по кількості заходів у закриті рукава, що може свідчити про певне зниження дослідницької активності у тварин, які отримували на фоні алкоголю NSE в дозі 5 мг/кг. Варто зазначити, що у тварин, які на фоні алкоголю отримували NSE в дозі 0,1 мг/кг кількість заходів в закриті промені дещо знижується як в порівнянні з контрольними щурами, так і з тваринами, які отримували лише алкоголь.

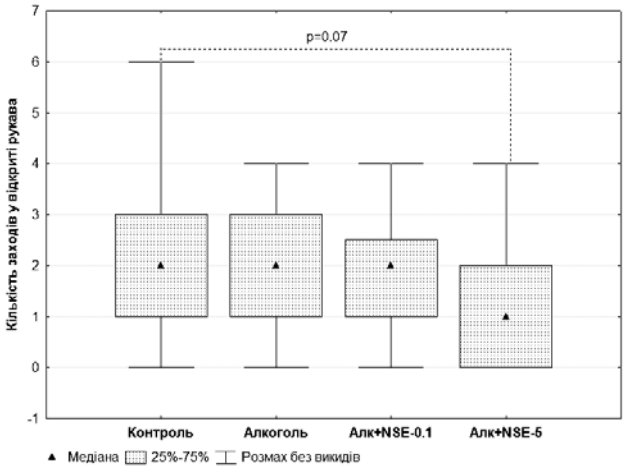

Рис.3. Кількість заходів у відкриті рукава у щурів I-IV групи в хрестоподібному припіднятому лабіринті

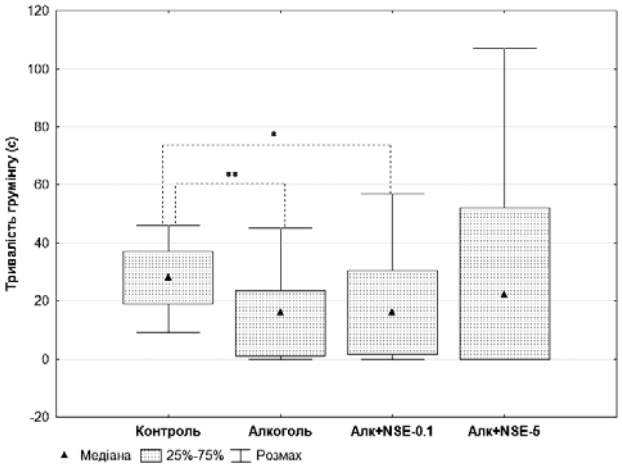

Рис.4. Тривалість грумінгу у щурів I-IV групи в хрестоподібному припіднятому лабіринті

Примітка: * – p<0,05; ** – p<0,01.

Аналіз грумінгової активності у тварин різних груп показав, що кількість реакцій грумінгу у тварин II групи статистично значуще менша, порівняно з тваринами I групи (p<0,05). Що стосується тривалості грумінгу (рис.4.), то у щурів II групи цей показник також статистично значуще менший порівняно з тваринами I групи (p<0,01), що може свідчити про зниження емоційної напруги у тварин, які вживали лише алкоголь. Аналіз грумінгової активності тварин, які на фоні алкоголю отримували NSE, виявив статистично значуще зменшення тривалості грумінгу у щурів III групи порівняно з тваринами I групи (p<0,05). Порівняння між собою всіх груп тварин, які піддавалися впливу алкоголю, не виявляє достовірної різниці як за кількістю, так і за тривалістю грумінгу, проте спостерігається лінійний дозозалежний ефект NSE, що проявляється у збільшенні кількості та тривалості грумінгової активності у щурів. Чим більша доза NSE тим більшою є кількість і тривалість грумінгу.

Загалом, аналізуючи отримані результати, можна констатувати, що у тварин після 30-ти денної хронічної алкогольної інтоксикації зменшується тривожно-подібна поведінки та емоційна напруга в умовах хрестоподібного ХПЛ. Це проявляється у достовірному зниженні кількості та тривалості грумінгу та тенденцією до збільшення вертикальної активності тварин порівняно з інтактними тваринами. Крім того, у таких тварин зростав показник співвідношення часу перебування у відкритих/закритих променях. Загалом все вище згадане вказує на анксіолітичний ефект хронічної 30-ти денної алкоголізації на поведінку тварин в хрестоподібному припіднятому лабіринті. Тоді як у тварин, які на фоні алкоголю отримували NSE, такий анксіолітичний ефект не проявляється. Навіть навпаки, у щурів, які отримували NSE в дозі 5 мг/кг на фоні алкоголю, спостерігається тенденція до зменшення кількості заходів у відкриті рукава та кількості перетинань центральної платформи порівняно з інтактними тваринами. Крім того у таких щурів порівняно з тваринами, які вживали лише алкоголь спостерігається зниження ноофільності, що проявляється у достовірному зниженні показника співвідношення часу у відкритих/закритих променях. Також спостерігається збільшенні часу перебування в закритих променях лабіринту та зниження вертикальної активності. А виявлена тенденція до зниження кількості перетинань центральної платформи та часу перебування в ній в сукупності з вище описаними змінами може свідчити про посилення тривожно-подібної поведінки у щурів, яким на фоні алкоголю вводили NSE в дозі 5 мг/кг. Така різниця чітко виявляється лише в порівнянні з тваринами, які вживали алкоголь, адже відмінності з контрольними тваринами не є достовірними. Аналіз поведінки тварин, які на фоні алкоголю отримували NSE в дозі 0,1 мг/кг не виявив посилення тривожності у таких тварин, як в порівнянні з контрольними щурами, так і з тваринами, які вживали лише алкоголь. Хоча при цьому і спостерігається достовірне зменшення тривалості грумінгу та тенденція до збільшення часу перебування в центральній частині платформи порівняно з інтактними тваринами, що може свідчити про дещо інший ефект вище згаданої дози, який не посилює тривожно-подібної поведінки.

Порівнюючи між собою поведінку всіх тварин, які піддавалися впливу алкоголю та введенні на його фоні NSE в різних дозах можна припустити, що виявлений анксіогенний ефекти комбінованого впливу NSE та алкоголю скоріше свідчать не про посилення тривожності цих тварин, а про зниження анксіолітичного ефекту, викликаного вживанням алкоголю. Це дозволяє зробити висновок, що NSE в обох досліджуваних дозах може мати вплив на поведінку алкоголізованих тварин, що є перспективним для подальшої оцінки ефективності застосування даної речовини в умовах хронічної алкогольної інтоксикації. Крім того спостерігається лінійний дозозалежний ефект NSE, і він тим більший, чим більша доза NSE. А виявлена тенденція до зменшення кількості заходів у відкриті промені порівняно з контрольними тваринами теоретично може свідчити про те, що доза NSE 5 мг/кг, з великою вірогідністю, є граничною межею застосування даної речовини, і подальше використання більших доз може мати більш виражений анксіогенний вплив на поведінку як алкоголізованих, так і контрольних щурів.

Список використаних джерел

1. Piazza P.V., Le Moal M. The role of stress in drug self-administration // Trends Pharmacol Sci. – 1998. – Vol.19. – P.67–74.
2. Kushner M.G., Abrams K., Borchardt C. The relationship between anxiety disorders and alcohol use disorders: a review of major perspectives and findings // Clin Psychology Rev. – 2000. – 20(2). – P.149–171.
3. Roberts A.J., Heyser C.J., Cole M. et. al. Excessive ethanol drinking following a history of dependence: animal model of allostasis // Neuropsychopharmacology. – 2000. – 22(6). – P.581–594.
4. Weiss F., Ciccocioppo R., Parsons L.H. et. al. Compulsive drug-seeking behaviour and relapse. Neuroadaptation, stress, and conditioning factors // Ann NY Acad Sci. – 2001. – 937. – P.1–26.
5. Bradizza C.M., Stasiewicz P.R., Paas N.D. Relapse to alcohol and drug use among individuals diagnosed with co-occurring mental health and substance use disorders: a review // Clin Psychol Rev. – 2006. – 26(2). – P.162–178.
6. Cosci F., Schruers K.R., Abrams K., Griez E.J. Alcohol use disorders and panic disorder: a review of the evidence of a direct relationship // J Clin Psychiatry. – 2007. – 68(6). – P.874–880.
7. Koob G.F. A role for GABA mechanisms in the motivational effects of alcohol // Biochem Pharmacol. – 2004. – 68(8). – P.1515–1525.
8. Valdez G.R., Roberts A.J., Chan K. et. al. Increased ethanol self-administration and anxiety-like behavior during acute ethanol withdrawal and protracted abstinence: regulation by corticotropin-releasing factor // Alcohol Clin Exp Res. – 2002. – 26(10). – P.1494–1501.
9. Santucci A.C, Cortes C., Bettica A., Cortes F. Chronic ethanol consumption in rats produces residual increases in anxiety 4 months after withdrawal // Behav Brain Res. – 2008. – 188(1). – P.24–31.
10. Hungund B.L., Szakall I., Adam A. et. al. Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens // J Neurochem. – 2003. – 84(4). – P.698–704.
11. Basavarajappa B.S., Hungund B.L. Chronic ethanol increases the cannabinoid receptor agonist anandamide and its N-arachidonoylphosphatidyl-ethanolamine in SK-N-SH cells // J Neurochem. – 1999. – 72(2). – P.522–528.
12. Viveros M., Marco E.M., File, S. E. Endocannabinoid system and stress and anxiety responses // Pharmacol Biochem Behav. – 2005. – 81(2). – P.331–342.
13. Lutz B. Endocannabinoid signals in the control of emotion // Curr Opin Pharmacol. – 2009. – 9(1). – P.46–52.
14. Rubino T., Guidali C., Vigano D. CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behavior // Neuropharmacology. – 2008. – 54(1). – P.151–160.
15. Lafenetre P., Chaouloff F., Marsicano G. The endocannabinoid system in the processing of anxiety and fear and how CB1 receptors may modulate fear extinction // Pharmacol Res. – 2007. – 56(5). – P.367–381.
16. Hill M.N., Gorzalka B.B. The endocannabinoid system and the treatment of mood and anxiety disorders // CNS Neurol Disord Drug Targets. – 2009. – 8(6). – P.451–458.
17. Hall W., Solowij N. Adverse effects of cannabis // Lancet. – 1998. – 352(9140). – P.1611–1616.
18. Linszen, D., van Amelsvoort T. Cannabis and psychosis: an update on course and biological plausible mechanisms // Curr Opin Psychiatry. – 2007. – 20(2). – P.116–120.
19. Desarnaud F., Cadas H., Piomelli D. Anandamide amidohydrolase activity in rat brain microsomes. Identification and partial characterization // J Biol Chem. – 1995. – 270(11). – P.6030–6035.
20. Hillard C.J., Jarrahian A. Accumulation of anandamide: evidence for cellular diversity // Neuropharmacology. – 2005. – 48(8). – P.1072–1078.
21. Bortolato M., Mangieri R.A., Fu J., et. al. Antidepressantlike activity of the fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 in a rat model of chronic mild stress // Biol Psychiatry. – 2005. – 62(10). – P.1103–1110.
22. Moreira F.A., Kaiser N., Monory K., Lutz B. Reduced anxietylike behaviour induced by genetic and pharmacological inhibition of the endocannabinoid-degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) is mediated by CB1 receptors // Neuropharmacology. – 2008. – 54(1). – P.141–150.
23. Arevalo C., de Miguel R., Hernandez-Tristan R. Cannabinoid effects on anxiety-related behaviours and hypothalamic neurotransmitters // Pharmacol Biochem Behav. – 2001. – 70(1). – P.123–131.
24. Patel S., Hillard C.J. Pharmacological evaluation of cannabinoid receptor ligands in a mouse model of anxiety: further evidence for an anxiolytic role for endogenous cannabinoid signaling // J Pharmacol Exp Ther. – 2006. – 318(1). – P.304–311.
25. Akinshola B.E., Chakrabarti A., Onaivi E.S. In-vitro and in-vivo action of cannabinoids // Neurochem Res. – 1999. – 24(10). – P.1233–1240.
26. Haller J., Bakos N., Szirmay M., et. al. The effects of genetic and pharmacological blockade of the CB1 cannabinoid receptor on anxiety // Eur J Neurosci. – 2002. – 16(7). – P.1395–1398.
27. Haller J., Varga B., Ledent C., Freund T.F. CB1 cannabinoid receptors mediate anxiolytic effects: convergent genetic and pharmacological evidence with CB1-specific agents // Behav Pharmacol. – 2004. – 15(4). – P.299–304.
28. Degenhardt L., Hall W., Lynskey M. The relationship between cannabis use, depression and anxiety among Australian adults: findings from the National Survey of Mental Health and Well-Being // Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. – 2001. – 36(5). – P.219–227.
29. Maccarrone M., Cartoni A., Parolaro D. et.al. Cannabimimetic activity, binding, and degradation of stearoylethanolamide with in the mouse central nervous system // Mol. Cell Neurosci. – 2002. – 21(1). – P.126-140.
30. Бондаренко О., Гула Н., Макарчук М., та ін. Вплив N-стеароїлетаноламіну та хронічної алкоголізації на поведінку щурів в тесті "Відкрите поле" // Вісник Львівського університету. Серія біологічна, 2013. – Вип.62. – С.285–293.
31. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review // Behav Brain Res. – 2001. – 125(1-2). – P.141-149.
32. Bogdanov V.B., Bogdanova O.V., Koulchitsky S.V. et. al. Behavior in the open field predicts the number of KCl-induced cortical spreading depressions in rats // Behav Brain Res. – 2013. – 236(1). – P.90-93.
33. Carobrez A.P, Bertoglio L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on // Neurosci Biobehav Rev. – 2005. – 29(8). – P.1193–1205.
34. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety // Pharmacol Biochem Behav. – 1996. – 54(1). – P.21–30.
35. Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat // J Neurosci Methods. – 1985. – 14(3). – P.149–167.
36. Пархоменко Ю. М., Донченко Г. В., Пилипчук С. Ю. Характерные метаболические нарушения в тканях крыс вызванные длительным приемом алкоголя // Укр. біохім. журн. – 2007. – Т.79. – № 3. – С.62-68.

Надійшла до редколегії 27.01.14

О. Бондаренко, асп.
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев,
Н. Гула, д-р биол. наук
Институт биохимии им. О.В. Паладина НАН Украины, Киев,
М. Макарчук, д-р биол. наук
КНУ имени Тараса Шевченко, Киев,
Т. Горидько, канд. биол. наук.
Институт биохимии им. О.В. Паладина НАН Украины, Киев

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ N-СТЕАРОИЛЕТАНОЛАМИНУ НА УРОВЕНЬ ТРИВОЖНОСТИ АЛКОГОЛИЗИРОВАНЫХ КРЫС

Исследовали поведение (уровень тревожности) крыс в крестообразном приподнятом лабиринте (КЛЛ) в норме, после употребления алкоголя, а также при употреблении алкоголя и введении на его фоне N-стеароилэтаноламина (NSE) в дозе 0,1 и 5 мг/кг. Выявлено, что NSE в обеих исследуемых дозах изменяет поведение алкоголизированных крыс. Выяснено, что 30-ти дневная хроническая алкоголизация уменьшает тревожно-подобное поведение и эмоциональную активность в КЛЛ. При этом у крыс, которые на фоне алкоголя получали NSE, анксиолитический эффект, вызванный алкоголем, уменьшается. Влияние NSE на исследуемые формы поведения проявлял простую линейную зависимость, он был тем больше, чем больше была доза NSE.

Ключевые слова: N-стеароилэтаноламин, алкоголь, крестообразный приподнятый лабиринт, тревожность.

O. Bondarenko, PhD stud.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv,
N. Gula, DSc.
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv,
N. Makarchuk, Dsc.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv,
T. Goridko, PhD
Palladin Institute of Biochemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine (NASU), Kyiv

EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF N-STEAROYLETHANOLAMINE ON ANXIETY LEVEL INRATS AFTER ALCOHOLIZATION

The rats' behavior (anxiety level) in the elevated plus maze (EPM) while normal conditions, after alcohol consumption and introduction of N-stearoylethanolamine (NSE) in the dose of 0.1 and 5 mg/kg on the background of alcohol consumption was investigated. Analysis revealed alteration of the behavior's parameters of the rats during consumption of NSE at both doses. It was found that chronic alcoholization during 30 days decreased anxious behavior and emotional activity in EPM. In addition, reduction of anxiological effect caused by alcohol was shown in the group of rats that consumed NSE on the background of alcohol. Impact of NSE on the analyzed behavior pattern revealed linear dependence: the higher dose of NSE, the higher impact of NSE.

Keywords. N-stearoylethanolamine, alcohol, elevated plus maze, anxiety.

УДК 59.085

А. Путніков, пров. інж., В. Позур, д-р біол. наук, В. Святецька, інж. 1-кат.
КНУ імені Тараса Шевченка, Київ,
Л. Закордонець, асист.
Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ

РЕАКЦІЯ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЩУРІВ НА ВВЕДЕННЯ МУЛЬТИПРОБІОТИКА "СИМБІТЕР" НА ФОНІ КУРСОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЦЕФТРИАКСОНУ

Метою роботи було дослідження реакції імунної системи щурів на введення мультипробіотика "Симбітер" на фоні курсового застосування цефтриаксону. Показано, що застосування пробіотика як самостійно, так і на фоні курсу ін'єкцій цефтриаксону, супроводжувалося зростанням вагового індекса та клітинності селезінки, підвищенням вагового індексу тимусу без статистично достовірних змін його клітинності. У групі тварин, котрі отримали "Симбітер" на тлі курсового застосування антибіотика, зареєстровано підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів. Отже, отримані дані свідчать на користь здатності пробіотика "Симбітер" стимулювати гуморальні імунні реакції.

Ключові слова: "Симбітер", цефтриаксон, органи імунної системи, циркулюючі імунні комплекси.

Вступ. Курсове введення антибіотиків супроводжується порушеннями імунологічної реактивності як системного, так і локального характеру. Внаслідок розвитку дисбактеріозу, спричиненого застосуванням антибіотиків, знижується кількість лейкоцитів (у тому числі Т-лімфоцитів, нейтрофілів) та рівень деяких цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-3, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактору (ГМ-КСФ)), знижується фагоцитоз макрофагів, маса селезінки та спостерігаються ознаки порушення гемопоезу. Рівень таких порушень корелює зі зменшенням кількості біфідобактерій. Таким чином, баланс мікробного профілю кишечника відіграє важливу роль у підтримці нормального функціонування імунної системи [8, 14]. Для корекції антибіотико-асоційованих порушень мікрофлори застосовують пробіотичні препарати. Пробіотики, як відомо, здатні знижувати побічні ефекти антибіотиків, а також зменшувати прояви асоційованої з антибіотиками діареї [18, 19]. Пре-, про- та симбіотики володіють широким спектром позитивних ефектів при патологічних станах, пов'язаних з порушеннями імунітету, що було показано на тваринних моделях [9]. Експериментальні дані свідчать, що пробіотики ефективно пригнічують хронічні запальні процеси у кишечнику та здатні справляти позитивний вплив при ожирінні. Також деякі із препаратів пробіотиків попереджають або затримують пухлинний ріст [20]. Цей ефект, як припускають, пов'язаний із їх впливом на місцеву мікрофлору та з їх імунорегуляторною дією [11, 12].

"Симбітер" багатокомпонентний пробіотичний препарат, що містить у своєму складі від 14 до 25 бактеріальних штамів роду *Bifidobacterium* (*B. bifidum, B. longum), Lactobacillus (L.fcidophilus, L.delbrueckii ssp. bulgaricus, L.helveticus), Propionibacterium (P.freudenreichii ssp. shermanii, P.acidipropionici), Streptococcus (S.salivarius spp. thermophilus*), а також штами *Acetobacter aceti* та *Lactococcus lactis*. Цей препарат показав широкий спектр пробіотичних властивостей та був запропонований як додатковий засіб в комплексній терапії ряду патологічних станів алергічної та аутоімунної етіології [1].

Метою даної роботи була оцінка впливу мультипробіотика "Симбітер", застосованого на фоні курсового введення цефтриаксону, на відносні вагові індекси та клітинність лімфоїдних органів, а також сироватковий рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) щурів.

Матеріали та методи досліджень. В експерименті були використані щури-самці лінії Вістар (m=180-230 г), яких утримували в стандартних умовах віварію ННЦ "Інститут біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка (12:12 цикл день:ніч, $T_{сер}$=21°С). Перед початком досліджень тварини були рандомізовані за вагою і розподілені на 4 групи: I – інтактний контроль (щурам щоденно вводили внурішньом'язово (в/м) 0,1 мл води для ін'єкцій, а через 4 год – 1 мл води для ін'єкцій перорально (*per os*)), n= 8; II – щурам щоденно вводили в/м 0,1 мл води для ін'єкцій, а через 4 год – 0,16 мл/кг симбітеру *per os* n= 8; III – щурам щоденно вводили внурішньомязово 50 мг/кг цефтриаксону (ВАТ "Київмедпрепарат", Україна), розведеного у воді для ін'єкцій, а через 4 год, вводили *per os* 1 мл води для ін'єкцій n= 8; IV – щурам щоденно вводили в/м 50 мг/кг цефтриаксону, а через 4 год, вводили *per os* 0,16 мл/кг "Симбітер" n= 8. "Симбітер ацидофільний" (SYMBITER® ACIDOPHILUS, ТОВ "Пролісок", Україна) містить біомасу живих клітин симбіоза пробіотичних мікроорганізмів, КУО/мл, не менш ніж: лактобацили і лактококи – $1{,}0\cdot10^9$, біфідобактерії – $1{,}0\cdot10^8$, пропіоновокислі бактерії – $3{,}0\cdot10^7$, оцтовокислі бактерії – $1{,}0\cdot10^5$.

© Путніков А., Позур В., Святецька В., Закордонець Л., 2014