



VILNIAUS UNIVERSITETAS  
Gyvybės mokslų centras  
Neurobiologijos ir biofizikos katedra

Neurobiologijos magistro studijų programos II kurso studentė  
Ieva Pocevičiūtė

## **Individualių skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir gydymo efektyvumui žiurkėse**

Darbo vadovė:  
prof. dr. V.Vengeliene

Vilnius, 2021

## TURINYS

<b>ĮVADAS.....</b>	<b>5</b>
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3. VEIKSNIAI DIDINANTYS PRIKLAUSOMYBĖS ATsirADIMO TIKIMYBĘ.....</b>	<b>10</b>
<b>1.4. PRIKLAUSOMYBĖS NUO ALKOHOLIO FARMAKOLOGINIS GYDYMAS.....</b>	<b>16</b>
1.4.1. Farmakologinė priklausomybės nuo alkoholio istorija .....	17
1.4.2. Vaistai skiriami alkoholio priklausomybei gydyti.....	18
1.4.2.1. Opioidų sistemą veikiantys medikamentai .....	18
1.4.2.2. Antikonvulsiniai medikamentai.....	19
1.4.2.3. Kiti alkoholizmo gydymui skirti medikamentai .....	21
1.4.2.4. Alkoholizmo gydymas per melatoninerginę sistemą.....	22
<b>1.5. IKIKLINIKINIAI PRIKLAUSOMYBĖS TYRIMAI IR GYVŪNŲ MODELIAI .....</b>	<b>24</b>
1.5.2. Gyvūnų modeliai .....	25
1.5.2.1. Alkoholizmo modeliai .....	26
1.5.2.2. Elgsenos sutrikimams sukelti skirti modeliai.....	29
<b>2. METODIKA .....</b>	<b>31</b>
2.1. Laboratoriniai gyvūnai .....	31
2.2. Naudojama įranga.....	31
2.3. Naudojamos medžiagos .....	32
2.4. Tyrimo eiga.....	33
2.5. Elgsenos testavimas .....	34
2.6. Savanoriškas alkoholio vartojimas .....	36
2.8. Medikamentinis gydymas.....	37
2.9 Duomenų statistinė analizė .....	38
<b>3. REZULTATAI .....</b>	<b>39</b>
3.1. Natūralios elgsenos charakteristikų įtaka savanoriškam alkoholio gėrimui.....	39
3.3. Žiurkių naujagimių depresijos modelis ir atsiradusių elgsenos pokyčių charakterizacija...50	
3.4. Farmakologiškai sukeltų elgsenos skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir reakcijai į gydymą melatoninu .....	56
<b>4. REZULTATŲ APTARIMAS.....</b>	<b>59</b>
<b>IŠVADOS .....</b>	<b>64</b>

**SANTRAUKA.....65**  
**SUMMARY.....66**  
**LITERATŪRA .....67**

## SUTRUMPINIMŲ SĄRAŠAS

**DSM** (angl. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) - psichikos sutrikimų diagnostinis ir statistinis vadovas.

**AVS** (angl. *Alcohol use disorder*) - alkoholio vartojimo sutrikimas.

**ICD** (angl. *International classification of diseases*)- tarptautinė ligų klasifikacija.

**FDA** (angl. *U.S. Food and Drug Administration*) - JAV maisto ir vaistų administracija.

**WHO/PSO** (angl. *World Health Organization*) - pasaulio sveikatos organizacija

**GRS** – gėrimo registravimo sistema

## IVADAS

Nesaikingas alkoholio vartojimas bei genetiniai aspektai gali sukelti alkoholio priklausomybę, vieną iš labiausiai paplitusių psichinių sutrikimų pasaulyje (Carvalho et al., 2019). Amerikos psichiatrų asociacijos diagnostikos ir statistikos psichikos sutrikimų vadovas (DSM, nuo angl. *The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) apibrėžia priklausomybę nuo alkoholio kaip alkoholio vartojimo sutrikimą - AVS (angl. *Alcohol use disorder, AUD*), kuriam būdingas kompulsyvus ir nekontroliuojamas alkoholio vartojimas, nepaisant žalos sau, savo šeimai ir artimiesiems ar visuomenei. Europoje, Tarptautinėje statistinėje ligų ir sveikatos sutrikimų klasifikacijoje (ICD; nuo angl. *International classification of diseases*) šis sutrikimas apibrėžiamas kaip priklausomybė nuo alkoholio arba žalingas alkoholio vartojimas. Svarbu paminėti, kad diagnozuojant priklausomybę nuo alkoholio didžiausias dėmesys yra skiriamas ne išgeriamam alkoholio kiekiui, bet gėrimo stiliui. Tarp žmonių, kuriems diagnozuota priklausomybė nuo alkoholio, yra stebimas gana nemažas heterogeniškumas: skiriasi jų charakteriai, gėrimo istorija ir gėrimo stilius (Litten et al., 2015), o pati priklausomybė gali būti lengvo, vidutinio ir sunkaus lygio, priklausomai nuo patiriamų šalutinių reiškinių (Carvalho et al., 2019; Holt & Tobin, 2018; Witkiewitz et al., 2019). Skiriasi ir tai, kaip pacientai reaguoja į gydymą vaistais.

Dėl neurocheminio alkoholio poveikio, priklausomybę nuo alkoholio galima gydyti taikant farmakoterapiją, kuri veikia skirtingus neurocheminius procesus ir tokiu būdu padeda valdyti motyvacijos sistemą, potraukį alkoholiui, ilginti abstinencijos laiką, mažinti suvartojamo alkoholio kiekį bei slopinti neigiamus simptomus siejamus su alkoholio vartojimo nutraukimu (Holt & Tobin, 2018). Norint pagerinti gydymo vaistais efektyvumą, pagrindinė užduotis yra nustatyti pacientus, kuriems teigiamo gydymo konkrečiu vaistu efekto tikimybė yra didesnė, o taip pat išsiaiškinti veiksniai, kurie turi įtakos gydymo efektyvumui padidinti (Litten et al., 2015). Tik tokiu atveju gydymas vaistais taps optimizuotas, nes bus pritaikytas konkrečiam žmogui.

Šiame tyrime didžiausias dėmesys buvo skiriamas individualių skirtumų tarp žiurkių nustatymui ir žiurkių elgsenos charakteristikų koreliacija su savanoriškai geriamo alkoholio kiekiu ir šių elgsenos charakteristikų įtaka gydymo, skirto alkoholio vartojimo sumažinimui, efektyvumui. Naudojome dvi medžiagas: nuo depresijos skirtą vaistą lamotriginą ir tamsos elgesį stimuliuojantį hormoną melatoniną. Kad geriau ištirtume elgsenos skirtumų įtaką alkoholio gėrimui panaudojome ne tik sveikų žiurkių grupę, bet ir žiurkes su farmakologiškai sukeltais elgsenos pokyčiais. Šiems pokyčiams sukelti, žiurkių jaunikliams vieną kartą per dieną (nuo 8-os ponatalinės dienos iki 21-os) buvo leidžiamas antidepresantas

escitalopramas (Savelyev et al., 2012). Antidepressantai, leidžiami tokiaame ankstyvame amžiuje, sutrikdo normalų smegenų vystymąsi, suaugus žiurkėms atsiranda įvairūs elgesio pokyčiai (Gellén et al., 2017). Iki šių dienų elgsenos alkoholizmo tyrimai nėra linkę nagrinėti gėrimo stiliaus. Paprastai šio tipo eksperimentuose yra matuojamas išgerto alkoholio kiekis 24 val. laikotarpyje ir esminė gėrimo stiliaus informacija yra parandama (Foo et al., 2017). Mūsų atliekamame tyrime stebėjome žiurkių savanoriškai geriamo alkoholio stilių: gėrimo greitį, gėrimo įvykių skaičių, vidutinę gėrimo įvykio trukmę ir kt. Stebėjome ir kaip gėrimo stilius koreliuoja su gydymo vaistais efektyvumu.

**Tyrimo tikslas** – išsiaiškinti tam tikrų individualių elgsenos charakteristikų įtaką alkoholio gėrimui ir gydymo, skirto alkoholio vartojimo sumažinimui, efektyvumui žiurkėse.

**Tyrimo uždaviniai:**

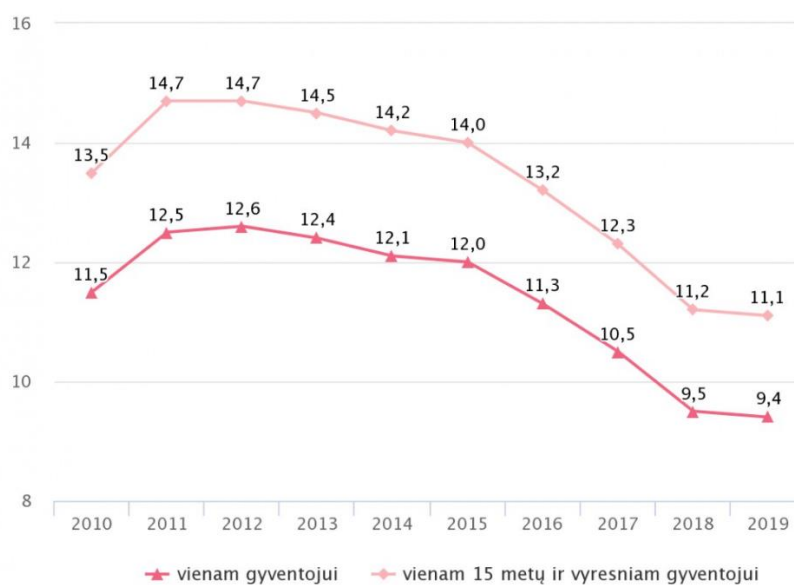
- 1) Sumodeliuoti elgesio pokyčius žiurkių patinų ir patelių jaunikliams, vieną kartą per dieną leidžiant serotonino transporterių inhibitorius escitalopramo;
- 2) Išmatuoti įvairias elgesio charakteristikas sveikų ir escitalopramu gydytų žiurkių: su depresija susijusį elgesį, socialinį elgesį, baikštumą (angl. *anxiety*), norą tyrinėti aplinką ir lokomotorinį aktyvumą;
- 3) Išmatuoti, 2 mėnesių bėgyje, sveikų ir escitalopramu gydytų žiurkių savanoriškai geriamo 10% alkoholio kiekį. Naudojant automatinę gėrimo registravimo sistemą surinkti intensyvius ilgalaikius duomenis, susijusius su savanorišku alkoholio vartojimu: vandens ir alkoholio vidutinį 24 val. gėrimo įvykių skaičių, apytikslę vieno gėrimo įvykio trukmę ir dydį, intervalą tarp šių įvykių ir gėrimo greitį;
- 4) Išanalizuoti, kurios elgsenos charakteristikos koreliuoja su didesniu alkoholio gėrimu ir yra esminės skirtingai žiurkių reakcijai į gydymą vaistais.

## 1. LITERATŪROS APŽVALGA

### 1.1. PRIKLAUSOMYBĖS NUO ALKOHOLIO ŽALA

2013-2020 metų veiklos plane, susijusiame su psichinės sveikatos problemomis, pasaulio sveikatos organizacija (PSO) atkreipė ypatingą dėmesį į priklausomybę nuo narkotinių medžiagų (WHO | Global Status Report on Alcohol and Health, 2018). Pagal PSO duomenis, Europos centrinėje ir rytų šalių grupėje (įskaitant ir Lietuvą) registruotas alkoholio suvartojimas yra vienas didžiausių pasaulyje (WHO | Global Status Report on Alcohol and Health, 2018). Alkoholis yra viena iš pagrindinių išankstinės mirties ir neįgalumo priežasčių, su priklausomybe nuo alkoholio susiduria 283 milijonai žmonių pasaulyje (WHO | Global status report on alcohol and health 2018).

Lietuvos Higienos instituto duomenimis, suskaičiuotais iš Privalomojo sveikatos draudimo informacinės sistemos, 2019 m. vienam 15 metų ir vyresniam šalies gyventojui teko 11.1 litro suvartoto absoliutaus (100 proc.) alkoholio (žr. 1 pav.).

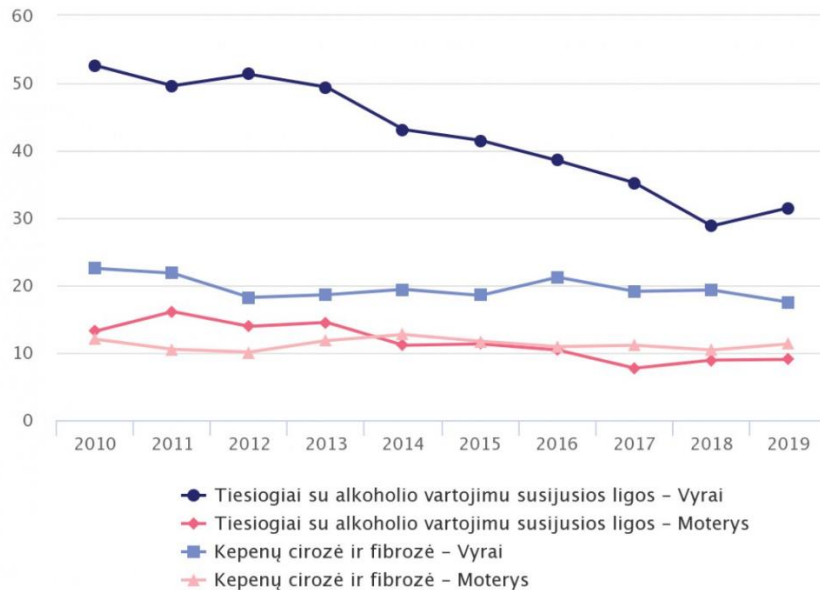


**1 pav.** Legalaus alkoholio suvartojimas Lietuvoje išreikštas litrais absoliutaus (100 proc.) alkoholio.

Adaptuota pagal Oficialiosios statistikos portalą, 2020.

2019 m. bent viena tiesiogiai su alkoholio vartojimu susijusi diagnozė buvo užregistruota 24 tūkst. asmenų (žr. 2 pav.). 100 tūkst. gyventojų teko 858 sergantys asmenys (2018 m. – 863). Dažniausiai buvo registruojama alkoholinė priklausomybė (611,5 atvejo 100 tūkst. gyventojų) (2018 metais: 599,9 atvejo 100 tūkst. gyventojų), alkoholio toksinis poveikis (161 atvejis) ir alkoholinė psichozė (93,9 atvejo 100 tūkst. gyventojų). Palyginti su 2018 m., sumažėjo ligotumas dėl alkoholio toksinio poveikio 5 proc., o alkoholio priklausomybė padidėjo 2 proc. 45-49 metų vyrų ligotumas tiesiogiai su alkoholio vartojimu

susijusiomis ligomis yra didžiausias ir daugiau negu 3 kartus viršija moterų ligotumą (Oficialiosios statistikos portalas, 2020). Higienos instituto duomenimis, 2019 m. 544 žmonės mirė dėl tiesiogiai su alkoholio vartojimu susijusių ligų, tai 37 daugiau negu 2018 m.



**2 pav.** Mirusių asmenų skaičius, tenkantis 100 tūkst. gyventojų ir ligotumas tiesiogiai su alkoholio vartojimu susijusiomis ligomis pagal amžiaus grupes ir lytį. Adaptuota pagal Oficialiosios statistikos portalą, 2020.

Taigi, priklausomybė nuo alkoholio yra aktuali problema tiek nacionaliniu, tiek tarptautiniu lygmeniu. Šios priklausomybės gydymas vis dar nėra pakankamai efektyvus, todėl naujos medikamentų paieškos yra būtinos, jos padėtų kontroliuoti su tuo susijusius sunkumus individualiam asmeniui bei sumažintų ekonominę naštą šaliai ir padidintų psichologinę bei fizinę Lietuvos visuomenės gerovę.

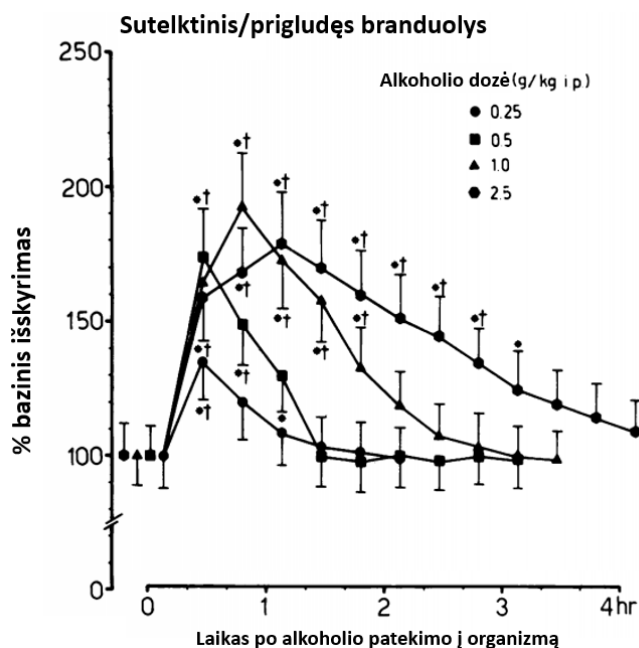
## 1.2. PRIKLAUSOMYBĖS NUO ALKOHOLIO SAMPRATA

Remiantis TLK-10 ir DSM-5 klasifikacija – priklausomybės nuo alkoholio diagnostiniai kriterijai yra šie: 1) didelis noras ar kompulsyvus potraukis vartoti alkoholį; 2) sunkumai kontroliuojant alkoholio vartojimą, atsižvelgiant į jo vartojimo galimybes atsiradimą, nutraukimą ar vartojamą kiekį; 3) fiziologinė abstinencijos būseną, kai alkoholio vartojimas yra nutrauktas arba sumažėjęs; 4) tolerancijos alkoholiui didėjimas; 5) laipsniškas alternatyvių interesų nepaisymas (pvz., neberūpi šeima, draugai, pomėgiai); ir 6) alkoholio vartojimo tęsimas, nepaisant akivaizdžiai žalingų padarinių (TLK-10-AM, 2015). Asmuo, kuris atitinka bent tris iš šių kriterijų, laikomas priklausomu. Daugelis asmenų, turinčių priklausomybę nuo alkoholio, praneša apie sunkumus susijusius su intensyviu potraukiu/troškimu (nuo



angl. *craving*) alkoholiui ir kovoja su atkryčio (nuo angl. *relapse*) rizika. Šie du faktoriai ypatingai stipriai veikia priklausomybės tęstinumą ir yra vieni iš priežasčių, dėl kurių tampa taip sunku reabilituoti žmones, kurie chroniškai vartoja alkoholį (Seo & Sinha, 2014). Pacientų atkryčio procentas yra gana didelis: iki 85% nuo alkoholio priklausomų pacientų po detoksikacijos įvyksta atkrytis (Wiers & Heinz, 2015).

Alkoholio vartojimas gali būti ūmus arba chroninis. Ūmus visų psichotropinių medžiagų vartojimas (įskaitant alkoholį) padidina dopamino neurotransmisiją mezolimbiniėje ir mezokortikiniėje dopamino sistemose. Viena pagrindinių smegenų sričių, kuri aktyviai dalyvauja psichoaktyvių medžiagų apdovanojimo suvokime – sutelktinis/priglundęs branduolys (nuo angl. *nucleus accumbens*) (žr. 3 pav.). Mezolimbinės ir mezokortikinės sistemų aktyvinimas sustiprina medžiagos tolesnį vartojimą iš dalies todėl, kad jos suvokiamos kaip naudingos (bent jau iš pradžių), bet daugiausia todėl, kad mūsų smegenys jas supainioja su išgyvenimui svarbiais dirgikliais (Wiers & Heinz, 2015). Kai alkoholio vartojimas tampa chroninis, mezokortikolimbiniai dopamino neuronai ir toliau dalyvauja vartojimo procese, tačiau jie nėra tokie svarbūs palaikant tolimesnį vartojimą.



**3 pav.** Dopamino išsiskyrimas sutelktiniame/priglundusiame branduolyje po alkoholio patekimo į organizmą. Adaptuota pagal Di Chiara & Imperato, 1988.

Alkoholio vartojimo sutrikimą lydi smegenų sričių veiklos pokyčiai, susiję su žmogaus motyvuotu elgesiu ir streso bei emocijų valdymu (pvz., vidurinės smegenys, limbinė sistema, prefrontalinė žievė ir migdolinis kūnas) (Witkiewitz et al., 2019). Teigiamo ir neigiamo pastiprinimo mechanizmai vaidina svarbų vaidmenį individualiam gėrimo elgesiui palaikyti – teigiamas elgesio

pastiprinimas yra susijęs su apdovanojimu ir pageidautinu alkoholio poveikiu ir (arba) neigiamas pastiprinimas yra susijęs su neigiama emocija ir fiziologine būseną, kurią palengvina alkoholio vartojimas (Koob & Volkow, 2016). Teigiamą alkoholio vartojimo pastiprinimą pirmiausia įtakoja dopaminas, opioidiniai peptidai, serotoninas,  $\gamma$ -aminosviesto rūgštis (GABA) ir endokannabinoidai, o neigiamas alkoholio vartojimo elgesio pastiprinimas yra susijęs su padidėjusiu kortikotropino faktorių išskyrimu ir glutamaterginių sistemų bei sumažėjusiu GABA perdavimo reguliavimu (Alasmari et al., 2018; Koob & Volkow, 2016). Kadangi psichoaktyvių medžiagų vartojimas nėra fiziologiškas, savireguliaciniai smegenų mechanizmai stengiasi atkurti pakitusią neurocheminę pusiausvyrą. Yra žinoma, kad chroninis alkoholio poveikis sukelia adaptacinius pokyčius keliuose neuromediatorių sistemose, įskaitant GABA, glutamatą ir norepinefriną ir kt. (Koob & Volkow, 2016; Mon et al., 2012; Seo & Sinha, 2014; Tabakoff & Hoffman, 2013).

Tačiau nežiūrint to, net ir tokiam narkotikui kaip kokainas, priklausomybė išsivysto tik 15-16% jį naudojusių žmonių per pirmus 10 metų (Robinson & Berridge, 2003). Įvairios teorijos bando paaiškinti kas įvyksta, kad kai kurie žmonės tampa priklausomi, o kiti – ne. Tačiau netgi nesiremiant nė viena iš teorijų, akivaizdu, kad kompulsiniam alkoholio vartojimo atsiradimui būdinga tai, kad sumažėja atlygio sistemos veikimas, dėl jos chroniškos stimuliacijos ir suaktyvėja anti-atlygio/streso mechanizmai, kur svarbiausia yra hipertrofinė kortikotropiną išskirianti sistema ir per daug aktyvi glutamaterginė sistema (Vengeliene, Bilbao, Molander, & Spanagel, 2008).

Taigi, remiantis įvairiomis priklausomybės atsiradimo teorijomis ir modeliais galima teigti, kad alkoholio vartojimas nervų sistemoje padaro daug reikšmingų pokyčių. Tačiau svarbu atkreipti dėmesį, kad tam tikri individualūs skirtumai, apibūdinantys žmogaus reakciją į alkoholį lemia dėl ko vienas žmogus išvysto priklausomybę nuo alkoholio, o kitas ne.

### **1.3. VEIKSNIAI DIDINANTYS PRIKLAUSOMYBĖS ATsirADIMO TIKIMYBĖ**

Psichoaktyvių medžiagų vartojimo pradžios, palaikymo ir elgesio kontrolės praradimo tikimybė priklauso nuo daugelio genetinių/epigenetinių veiksnių ir ilgalaikio aplinkos poveikio. Šie veiksniai apibrėžia asmenybės bruožus ir kitas individo savybes, tokias kaip kognityviniai gebėjimai, jautrumas atlygiui ir stresui bei socialiniai įgūdžiai. Chroniškas psichoaktyvių medžiagų vartojimas sukelia daugybę smegenų funkcijos pakitimų (žr. 1.2. skyrelį), o tai sukelia papildomus vartotojo individualių elgesio charakteristikų pokyčius bei daro įtaką žmogaus asmenybės pokyčiams.

Priklausomybę nuo alkoholio turintis žmogus, neretai turi, arba rizikuoja išvystyti, ir kitokius sutrikimus. Komorbidiškumas arba gretutinis sergamumas reiškia, kad vieno sindromo (sutrikimo) struktūroje gali būti mažesnė ar didesnė kito sindromo/sutrikimo dalis (Dembinskas, 2003). Tačiau vis dažniau terminas „komorbidiškumas“ yra vartojamas kalbant apie gretutines būkles, kurios yra prisidėjusios prie specifinės pagrindinės būklės. Gretutinio susirgimo atveju abi šios būklės pablogina viena kitos eigą ir žmogaus savijautą. Kai žmogų kamuoja keletas sutrikimų vienu metu, tampa sunku tinkamai diagnozuoti atskiras ligas ir nustatyti jų raidą. Neretai simptomai būna įvairaus sunkumo, yra kompleksiški, todėl gali būti sunku nustatyti kas yra ko priežastis.

Kaip buvo minima anksčiau, iki šiol nėra žinoma dėl ko tiksliai konkretus žmogus tampa priklausomas, bet remiantis atliktais tyrimais, panašu, kad sąveikauti turi ne vienas veiksnys, šis sutrikimas yra kompleksiškas, todėl ir tampama priklausomu ne nuo vieno faktoriaus. Tačiau yra žinoma keletas pagrindinių veiksnių, kurie didina priklausomybės atsiradimo tikimybę.

### **1.3.1. Socialinis elgesys**

Socialinė sritis apima tokius procesus kaip savęs ir kitų supratimas, socialinių ryšių vystymasis ir gebėjimas integruotis bei bendrauti socialinėje aplinkoje. Genetinių ir aplinkos veiksnių sąveika (pavyzdžiui, ankstyvas sveikos socialinės aplinkos sutrikdymas) prisideda prie socialinių asmenybės bruožų formavimosi ir, kai kuriais atvejais, socialinių funkcijų sutrikimu (Tomalski & Johnson, 2010). Nustatyta, kad kai kurie sutrikimai, susiję su socialine sritimi (pvz., asocialaus tipo asmenybės sutrikimas), yra susiję su padidėjusia tikimybe atsirasti įvairioms psichoaktyvių medžiagų vartojimo problemoms, o tai rodo, kad dėl sutrikusių socialinių funkcijų gali padidėti psichoaktyvių medžiagų troškimas ir vartojimas (Pratkanis, 2011).

Neuropeptidas oksitocinas yra žinomas kaip stimuliuojantis gimdymo procesą ir pieno išsiskyrimą. Tačiau atsiranda vis daugiau įrodymų, kad oksitocinas moduliuoja sudėtingą socialinį elgesį ir socialinę kogniciją. Oksitocinas reguliuoja daugybę elgesio aspektų, susijusių su socialine sąveika ir turi prosocialinį, anksiolitinį, antidepresinį ir stresą mažinantį poveikį (Neumann & Landgraf, 2012; Kerstin & Maria, 2015). Oksitocinas išsiskiria įvairių socialinių dirgiklių metu ir, be kitų, suaktyvina mezokortikolimbinę atlygio sistemą (Love, 2014), todėl manoma, kad socialinės sąveikos gali veikti kaip apsaugantis veiksnys nuo psichoaktyvių medžiagų vartojimo, teikdamas pasitenkinimo jausmą bei mažinantis patiriamą nerimą (Smith & Wang, 2014). Kita vertus, žinoma, kad socialinė sąveika, kuri sukelia stresą, suaktyvina centrinę streso sistemą, kuri, manoma, yra susijusi su psichoaktyvių medžiagų

vartojimu, o socialinė atskirtis gali būti vienas veiksnių, susijusių su padidėjusiu medžiagų vartojimu (Heilig et al., 2019). Socialinė izoliacija ir vienišumas yra pripažinti kaip predispoziciniai faktoriai sukeltys alkoholio vartojimo problemas (Bailey et al., 2021).

Socialinių procesų poveikis žmonių vartojamoms psichoaktyvioms medžiagoms yra išskirtinai sudėtingas. Alkoholio vartojimas yra išmoktas, nuo konteksto priklausantis elgesys, o žmogaus „socialinės normos“ sukelia daug šališkumo su alkoholio vartojimu susijusiam elgesiui. Dažniausiai alkoholio vartojimas žmonėms pasireiškia socialiniame kontekste, o socialinė motyvacija vaidina svarbų vaidmenį vartojant alkoholį (Lipperman-Kreda et al., 2018). Jauniems suaugusiems, apsuptiems kitų geriančių žmonių, iškyla didesnė tikimybė pradėti gerti ir vartoti didesnį alkoholio kiekį (O’Donnell et al., 2019). Yra pademonstruota, kad artimų žmonių (pavyzdžiui, šeimos narių ar draugų) socialinis atstūmimas yra susijęs su padidėjusiu alkoholio vartojimu, tuo tarpu nepažįstamų ir mažiau pažįstamų asmenų socialinis atstūmimas neturi didesnės įtakos alkoholio vartojimui (Laws et al., 2017).

Socialinių procesų poveikis psichoaktyvių medžiagų vartojimui buvo plačiai ištirtas gyvūnams, tačiau svarbu pažymėti, kad žmogaus socialinė organizacija skiriasi nuo kitų gyvūnų (pavyzdžiui, žmogaus „socialinių normų“ nėra kitose gyvūnų rūšyse), dėl to reiktų nepamiršti vertinant ikiklinikinių išvadų rezultatus ir bandant tai bent iš dalies taikyti žmonėms. Vis dėl to, reikia pabrėžti, kad ir gyvūnų socialinės grupės yra sukūrusios savo organizacinius aspektus. Todėl manipuluojant socialiniais aspektais graužikams taip pat galima padaryti įtakos alkoholio vartojimui. Pavyzdžiui, kai žiurkėms buvo duodama tik trumpalaikė galimybė socialiai pabendrauti ir ši galimybė buvo suporuota su alkoholio gėrimu, žiurkės išgėrė jo daugiau, negu įprasta (Tomie et al., 2005). Tačiau, jei žiurkėms duodama galimybė nuolat socialiai bendrauti ir gerti alkoholį, išgeriamas kiekis yra mažesnis, negu būtų socialiai bendraujant tik protarpiais (Tomie et al., 2007), tai rodo, kad socialiniai faktoriai turi įtakos alkoholio vartojimo ypatumams. Tyrimai pamini ir tai, kad socialinis rangas turi įtakos, o kuo jis graužikuose žemesnis, tuo labiau didėja alkoholio vartojimas (Becker et al., 2011).

Apibendrinant, galima daryti išvadą, kad yra didelė tikimybė jog alkoholio vartojimo dažnumas ir kiekis siejasi su įvairiomis socialinėmis sąveikomis.

### **1.3.2. Nerimas ir baikštumas**

Įtampa, stresinės ar traumuojančios gyvenimo patirtys laikomos pagrindiniu aplinkos veiksniu, sukeliančiu daugelį žinomų psichikos sutrikimų, išvardytų DSM ir ICD ligų klasifikacijose, įskaitant ir nerimo bei psichoaktyvių medžiagų vartojimo sutrikimo atsiradimą ir pasikartojimą (María-Ríos &

Morrow, 2020). O įgimtos biologinės savybės apibrėžia streso sistemos jautrumą ir gebėjimą prisitaikyti prie aplinkos pokyčių ir apsprendžia su tuo susijusius individualius skirtumus tarp žmonių (Regev & Baram, 2014). Tyrimai parodė, kad iki 50% asmenų, gydomų dėl problemiško alkoholio vartojimo, taip pat atitinka ir vieno ar kelių nerimo sutrikimų diagnostinius kriterijus (Chan et al., 2008; Kushner et al., 2005). Nemaža dalis žmonių, turinčių problemų dėl alkoholio vartojimo, patiria stiprų nerimą ir nuotaikos problemas (Anker & Kushner, 2019). Amžius taip pat gali atlikti svarbų vaidmenį nustatant nerimo poveikį alkoholio vartojimui. Pavyzdžiui, tyrimas, kuris buvo atliktas kolegijos studentams, nustatė dienos nerimo ir vakarinio alkoholio vartojimo tiesioginį ryšį (O'Hara et al., 2014).

Asmenybės bruožų tyrimai atskleidžia ypatingą nerimo ryšį su alkoholizmu. Nerimo sutrikimai (kurie yra išskirti DMS ir ICD), yra siejami su psichoaktyvių medžiagų vartojimo sutrikimais (Belin, Belin-Rauscent, Everitt ir Dalley, 2016). Remiantis didžiojo penketo asmenybės bruožų modeliu (kur išskiriamas neurotiškumas, estraversija, sutariamumas, atvirumas patirčiai ir sąmoningumas), impulsyvumas ir neurotiškumas (dar įvardijamas kaip emocinis stabilumas) yra aukštesnis įvairaus tipo priklausomybėse, tačiau, žmonės turintys AVS, pasižymi žemesniais ekstraversijos, sutariamumo ir atvirumo patirčiai bruožais (Zilberman et al., 2018). Nerimastingos, depresinės ir ribinės asmenybės simptomai yra reikšmingai susiję su didesnėmis alkoholio problemomis žmogaus gyvenime tiek vyrams, tiek moterims; tačiau ryšys tik tarp nerimo ir alkoholio vartojimo problemų vyrams yra gerokai stipresnis, lyginant su moterimis (Atkinson & Finn, 2019). Turintys aukštą nerimą asmenys gali vartoti alkoholį kaip streso įveikos mechanizmą tam, kad jaustų palengvėjimą savireguliuojant patiriamą distresą bei nerimą (Khantzian, 2013).

Angliškas terminas „anxiety“ negali būti vartojamas taip pat, kaip kalbant apie žmogaus nerimą ar nerimastingą asmenybę. Gyvūnuose šį terminą toliau keisime į baikštumą, nes jį labiau padeda įvertinti įvairūs elgsenos testai. Tyrimai su gyvūnais atskleidė, kad ankstesnis su baikštumu susijęs elgesys turi įtakos alkoholio vartojimui. Pavyzdžiui, Hayton ir kolegų (2012) tyrimas parodė, kad kai prieiga prie alkoholio yra neribota, su aukštu baikštumu susijusi grupė padidino gėrimų įvykių skaičių, bet ne dažnumą. Tyrimuose nustatyta, kad tie graužikai, kuriems būdingas didesnis baikštumo lygis (pvz., tiriant nerimą plius-labirinto teste), yra linkę gerti daugiau alkoholio (Henniger et al., 2002). Selektiviai auginamos pelės (HDID linija), kurios geria alkoholį tamsiuoju paros metu, parodė sumažėjusį baikštumą išgėrus net ir šviesiuoju paros metu (Barkley-Levenson & Crabbe 2015). Jadhav ir kolegos (2017) taip pat patvirtino, kad baikštingas profilis graužikuose gali būti predispozicinis faktorius ir tiesiogiai siejamas su alkoholio vartojimo sutrikimu.

Apibendrinus anksčiau pristatytus tyrimus, galima teigti, kad nerimas (ar gyvūnuose baikštumas) ir psichoaktyvių medžiagų vartojimas yra tiesiogiai susijęs ir didesnis nerimastingumas (baikštumas) tiek gyvūnuose, tiek žmonėse gali tapti lemiančiu faktoriumi ar alkoholis bus imamas vartoti chroniškai.

### 1.3.3. Depresija

Alkoholizmo komorbidiškumas jau senai tyrinėjimas su įvairiomis psichikos ligomis, tačiau ypatingas dėmesys skiriamas alkoholizmo ir depresijos sąsajoms. Gerai žinoma, kad depresija sergantys pacientai gali vartoti alkoholį laikinai palengvindami depresijos simptomus, tačiau taip pat įrodyta, kad ilgalaikėje perspektyvoje alkoholio vartojimas neigiamai veikia depresijos būseną (Pavkovic et al., 2018).

Yra žinoma, kad kai kurie žmonės vartoja alkoholį, kaip savigydą (nuo angl. *self-medication theory*) nuo depresijos ir toks gydymosi būdas gali laipsniškai pereiti į priklausomybę nuo alkoholio. Iš tiesų, gali būti, kad depresijos simptomai sumažėja dėl tam tikrų alkoholio sukeltų pokyčių smegenyse. Bet iš kitos pusės, alkoholizmu sergantiems žmonėms dažnai diagnozuojama antrinė depresija. Antrinė depresija – tai depresija asmeniui, turinčiam vieną ar kelis anksčiau egzistuojančius psichikos sutrikimus arba kitas gyvybei pavojingas medicinines ligas, atsirandančias prieš ir prilygstant depresijos simptomams (Clayton & Lewis, 1981). Antrinė depresija dažniausiai pastebima pacientams, kurie kreipiasi į psichiatrijos įstaigas. Kiekvieniems 5 pacientams, kuriems diagnozuota depresija, maždaug 2 pacientai turėtų būti priskiriami prie antrinių depresijos pacientų (Clayton & Lewis, 1981). Antrine depresija sergantis pacientas dažniau būna vyriškos lyties, jaunesnis ir šeimoje dažniausiai yra kitų alkoholizmo atvejų (Hasegawa et al., 1991). Dėl šios priežasties pacientas ne tik kenčia nuo priklausomybės, bet neretai ir įvykdo savižudybę (Agosti & Levin, 2006; Wilcox et al., 2004). Aiškinant šių abiejų ligų susietumą būtų galima išskirti ir socialinius bei ekonominius gyvenimo aspektus. Priklausomas nuo alkoholio asmuo neretai turi įvairių sunkumų savo socialiniame gyvenime, šeimoje, atsiranda įdarbinimo ar darbo išlaikymo iššūkiai, susidūrimai su teisėsauga bei fizine individo sveikata (Paljärvi et al., 2009; Sihvola et al., 2008).

Manoma, kad priklausomybę nuo alkoholio ir depresiją sukelia tie patys genetiniai ir aplinkos faktoriai, kurie padidina riziką išvystyti tiek vieną, tiek kitą psichinį sutrikimą. Keli tyrimai atskleidė, kad tam tikri muskarino acetilcholino receptoriaus M2 (CRHM2) geno variantai yra susiję su padidėjusia depresijos ir priklausomybe nuo alkoholio rizika (Luo et al., 2005; J. C. Wang et al., 2004). Kiti mokslininkai teigia, kad abu sutrikimai susiję komorbidiškai, tai reiškia, kad tiek priklausomybė gali

padidinti depresijos susirgimo riziką, tiek depresija priklausomybės riziką (Boden & Fergusson, 2011). Yra tikimybė, kad gydant vieną ligą, kito sutrikimo simptomai taip pat lengvės.

Apibendrinant, galima teigti, kad depresija sergantiems pacientams alkoholizmas turi įtakos depresijos eigai, savižudybių ir mirties rizikai bei socialiniam funkcionavimui (Agosti & Levin, 2006).

#### **1.3.4. Miego kokybė**

Tyrimai rodo tvirtą sąsają tarp paros cirkadinio ritmo ir psichinės sveikatos, tačiau tik neseniai pradėti tyrimai atskleidžia tiesioginę cirkadinės sistemos ir nuotaikos reguliavimo sąveiką (Walker et al., 2020). Pasikartojančios neišspręstos miego problemos, ypač sunkumai užmigti, gali priversti žmones ieškoti miegą lengvinančių medžiagų, kurias galima įsigyti be medicininio recepto. Atsižvelgiant į tai, kad alkoholis turi raminamųjų savybių, kurios leidžia greičiau užmigti (Roehrs et al., 2001; Thakkar et al., 2015), kai kuriems žmonėms gali kilti pagunda pradėti vartoti alkoholį, savigydos tikslais. Tačiau yra pastebėta, kad vidutinis ir didelis alkoholio kiekis kraujuje sutrikdo miego architektūrą, o lėtinis gėrimas daro ilgalaikį neigiamą poveikį miego kokybei (Chakravorty et al., 2016).

Alkoholio vartojimas prieš miegą išbalansuoja antrąją miego pusę, žmogus miega paviršutiniškiau, dažniau pabunda, žymiai sunkiau pakartotinai užmiega (Ebrahim, Shapiro, Williams & Fenwick, 2013). Tyrimai rodo, kad laikui einant, vyno taurė prieš miegą praranda savo migdomąjį efektą, o miego trukdžiai tik ryškėja (Michael, Stein, & Friedmann, 2005). Tai ypač ryšku vidutiniame ir pagyvenusiame amžiuje. Taip pat paaiškėjo, kad viso to neįmanoma išvengti net tada, kai alkoholis vartojamas šešias valandas prieš miegą, nors jis visas iš organizmo jau būna pašalintas. Mokslininkai turi duomenų, kad alkoholio vartojimas apskritai turi ilgalaikį miego reguliavimą trikdančią poveikį (Medic, Wille & Hemels, 2017; Park et al., 2015). Taigi, ilgalaikėje perspektyvoje, nedideli skundai dėl miego kokybės gali sustiprėti dėl ilgalaikio besaikio alkoholio vartojimo. Girtuokliavimas gali pailginti miego latenciją (Van Reen et al., 2016) ir sumažinti miego kokybę (Lydon et al., 2016). O įvairūs miego architektūros pokyčiai gali būti lyg indikacija alkoholizmo atkryčiui (Brower, 2001).

Ikiklinikiniai tyrimai su graužikais parodė, kad dėl kelių savaitių priverstinio alkoholio suvartoto poveikio sutrumpėjo jų cirkadinis ciklas (Rosenwasser & Turek, 2015). Laisvai pasirinktas alkoholio vartojimas turėjo panašų, nors ne tokį nuoseklų, poveikį gyvūnų elgesiui (Rosenwasser & Turek, 2015). Miego architektūros pokyčiai buvo pastebėti suaugusioms žiurkėms, priverstinai veikiamoms alkoholio paauglystėje (Criado et al., 2008), kas rodo, kad alkoholio poveikis ankstyvajame gyvenimo periode gali tęstis labai ilgą laiką.

Sutrikdyta REM miego fazė žiurkių naujagimiams sąlygojo padidėjusį alkoholio vartojimą jiems suaugus (Dwyer & Rosenwasser, 1998; Hilakivi et al., 1984). Atlikti tyrimai su graužikų miegu, keičiant įvairias su miegu susijusias sąlygas (pavyzdžiui, pakitęs šviesos ir tamsos laikas, miego sutrukdymai, trumpesnė ar ilgesnė šviesos/tamsos fazė) parodė, kad individualūs skirtumai taip pat itin svarbūs, nes sutrukdžius miego režimą, alkoholio išgėrimas gali mažėti, didėti arba pokyčių gali išvis nebūti, tai labai priklauso ir nuo graužikų linijos (Rosenwasser & Turek, 2015).

Kelių longitudinalinių graužikų tyrimų metu buvo stebimi cirkadinio aktyvumo pokyčiai reaguojant į alkoholio deprivaciją ir pakartotinį jo poveikį naudojant ilgalaikį laisvo pasirinkimo gėrimo metodą (Vengeliene et al., 2013; 2015). Šie tyrimai pademonstravo, kad pagerinus miego kokybę, galima sumažinti išgeriamo alkoholio kiekį (Vengeliene et al., 2015).

Apibendrinus, įvairūs miego sutrikimai ir sunkumai gali turėti įtakos alkoholio vartojimo pradžiai arba jo palaikymui (bei atvirkščiai).

#### **1.4. PRIKLAUSOMYBĖS NUO ALKOHOLIO FARMAKOLOGINIS GYDYMAS**

Šiuo metu yra tik trys vaistai, kuriuos patvirtino Jungtinių Amerikos Valstijų maisto ir vaistų administracija, skirti gydyti piktnaudžiavimą alkoholiu ir atsiradusią priklausomybę, Europoje patvirtinti 4 vaistai. Nė vienas iš šių vaistų nėra skiriamas žmonėms, kurie vis dar vartoja alkoholį. Jie skirti tik tiems žmonėms, kurie jau nustojo vartoti alkoholį ir bando išlaikyti abstinenciją (Akbar et al., 2018). Šiai dienai vis dar nėra farmakologinio vaisto, kuris išgydytų priklausomybę nuo alkoholio ar kitos psichoaktyvios medžiagos. Dauguma medikamentų yra orientuoti į atkryčio prevenciją ir bendros savijautos sušvelninimą abstinencijos metu. Panašiu tikslu priklausomybės atvejais neretai yra vartojami antidepresantai, kurie gydo antrinę depresiją chroniško vartojimo metu, grąžina asmeniui norą gyventi ir švelnina kitus depresyvius simptomus (Witkiewitz et al., 2019).

Individualizuota priežiūra klinikinėje praktikoje apibūdinama kaip esminis slaugos komponentas ir kaip pagrindinis klinikinės praktikos principas (Waters & Easton, 1999). Individualizuota priežiūra ir gydymas yra orientuotas į asmenį ir jo specifinę sveikatos problemą, todėl yra orientuotas į pacientą. Apžvalgos ir metaanalizės atskleidžia tik nedidelius psichoterapijos ir farmakoterapijos metodų poveikio dydžius alkoholizmo gydymui, tikriausiai todėl, kad jie paprastai testuojami dideliose ir heterogeniškosiose žmonių grupėse, kur „vienas dydis netinka visiems“ (Litten et al., 2015; Mann & Hermann, 2010). Yra duomenų, kad tik 14.6 proc. tų, kurie visą gyvenimą yra piktnaudžiavę alkoholiu ar yra priklausomi nuo jo, gavo atitinkamą gydymą (Cohen et al., 2007). Neurobiologiniai tyrimai nustatė daugiau nei 30



molekulinių taikinių, kurie, atrodo, keičia žmonių potraukį alkoholiui ar patį gėrimą (Litten et al., 2012). Tačiau vis dar lieka klausimų, kaip nustatyti šiuos taikinius, numatyti ar jie yra susiję, ar veikia nepriklausomai vienas nuo kito ir, svarbiausia, nustatyti jų vaidmenį sukeliant ir palaikant stiprų alkoholio vartojimą.

Ir toliau tyrimais bandoma atrasti įvairių medikamentų (pavyzdžiui, antidepresantų, antikonvulsantų) poveikį nuo alkoholio priklausantiems asmenims, padėti sumažinti priklausomybės nutraukimo našta asmeniui ir spręsti šią opią, pasaulinio lygio problemą.

### **1.4.1. Farmakologinė priklausomybės nuo alkoholio istorija**

Apie priklausomybės nuo alkoholio gydymą kalbama jau pakankamai senai. Pirmą kartą XVIII a. pabaigoje Pensilvanijos gydytojas Benjamin Rush apibūdino alkoholio kontrolės praradimą ir galimą jo gydymą. Jo rekomendacijos dėl gydymo apėmė krikščioniškos religijos praktikas, kaltės ir gėdos jausmą, alkoholio susiejimą su nerimą keliančiais dirgikliais, kitų aistrų gyvenime atradimą, vegetarišką dietą, prisiekimą nevartoti alkoholio, staigią ir absoliučią abstinenciją nuo alkoholio. Per 1800-uosius metus ir 1900-ųjų pradžioje buvo padėti pagrindai savitarpio pagalbos organizacijoms (Witkiewitz, Litten, & Leggio, 2019), o anoniminių alkoholikų (A.A.) įkūrimas 1930-aisiais (White & Kurtz, 2008) pakeitė alkoholizmo koncepciją ir įvardino ją kaip AVS.

Tuo laikotarpiu buvo galimybė gydytis psichiatrinėse ligoninėse, tačiau vienintelis gydymas, kuris buvo siūlomas – priverstinė abstinencija nuo alkoholio (Baumohl, 1990). Net ir vieni pirmųjų vaistų AVS gydyti (pvz. *Disulfiram*), buvo skirti abstinencijai išlaikyti, o ne su priklausomybe susijusio elgesio pakeitimui.

Nepaisant dabar esančių pakankamai rimtų įrodymų, kad AVS gydymui skirta farmakoterapija yra tinkama daugeliui pacientų, ji yra nepakankamai taikoma (Holt & Tobin, 2018). Farmakoterapija nėra dažnai naudojama dėl to, kad esami vaistai padeda tik mažai daliai pacientų. Skirtinga žmonių reakcija į vaistus kyla dėl įgimtų ar įgytų individualių skirtumų tarp žmonių. Šie skirtumai apsprendžia jų skirtingus charakterius, gėrimo stilių bei priklausomybės sunkumą. Geriausio vaisto pasirinkimas AVS gydymui taip pat priklauso nuo gydymo tikslų, įvairių gretutinių ligų buvimo ar nebuvimo, nuo vaisto vartojimo režimo laikymosi ir nuo vaistų prieinamumo bei kainos. Naujų farmacinių reagentų kūrimas yra ilgas ir brangus procesas (Witkiewitz et al., 2019).

Tiems pacientams, kuriems reikalingas farmakologinis gydymas, benzodiazepinai (pvz., diazepam, lorazepam, oksazepam ir midazolamas) yra dažniausiai naudojami vaistai alkoholio

abstinencijos sindromui gydyti. Benzodiazepinai veikia stiprindami GABA neurotransmiterio poveikį GABA<sub>A</sub> receptoriams. Pažymėtina, kad benzodiazepinai yra vienintelė vaistų klasė, kuri ne tik sumažina alkoholio nutraukimo sindromo sunkumą, bet ir sumažina abstinencijos traukulių ir/arba delirinio tremenso riziką (Votaw et al., 2019).

#### 1.4.2. Vaistai skiriami alkoholio priklausomybei gydyti

Šiais laikais siūloma labai didelė vaistų įvairovė, žemiau bus aptariami pagrindiniai vaistai skirti tiesiogiai gydyti alkoholizmą ir tie, kurie nėra tiesiogiai sukurti alkoholizmo gydymui, tačiau buvo pastebėtas teigiamas poveikis aktyčio ar abstinencijos išlaikymui.

##### 1.4.2.1. Opioidų sistemą veikiantys medikamentai

**Naltreksonas (nuo angl. *Naltrexone*).** Geriamoji naltreksono forma, FDA patvirtinta 1995 m., bei prailginto atpalaidavimo injekcinė naltreksono forma, patvirtinta 2006 m. (Witkiewitz et al., 2019). Europoje šis vaistas taip pat patvirtintas Europos vaistų agentūros (European Medicines Agency, EMA). Atlygio kelias smegenyse, kuris sustiprina alkoholio vartojimą, apima dopamino išsiskyrimą mezokortikolimbinėje sistemoje ir beta-endorfinų išsiskyrimą iš pagumburio. Manoma, kad naltreksonas, stiprus neselektyvus opioidų receptorių antagonistas, blokuoja šį endorfinų kelią ir taip slopina alkoholio sukeltą malonumą, todėl alkoholis tampa mažiau patrauklus, o derinamas su palaikomąja psichoterapija, naltreksonas pailgina abstinenciją (Holt & Tobin, 2018).

Naltreksono veiksmingumas buvo įrodytas pacientams, kurie neseniai nustojo vartoti alkoholį. „Cochrane“ sisteminė apžvalga ir metaanalizė, kurioje dalyvavo maždaug 4500 tiriamųjų, parodė, kad gydymas naltreksonu reikšmingai sumažino riziką grįžti prie alkoholio vartojimo iki 83%, lyginant su placebo grupėmis (Rösner et al., 2010). Naltreksonas sumažina potraukį alkoholiui, ir buvo nustatyta, kad jis yra pats efektyviausias mažinant stiprų girtuokliavimą (Jonas et al., 2014; Maisel et al., 2013). Naltreksonas yra saugus pacientams, sergantiems pažengusiomis kepenų ligomis (pavyzdžiui, ciroze), tačiau yra draudžiamas pacientams, vartojantiems opioidinius vaistus, nes naltreksono vartojimas sukeltų opioidų veikimo nuslopinimą ir blokuotų numatytą opioidų poveikį (Witkiewitz et al., 2019).

**Nalmefenas (nuo angl. *Nalmefene*).** Nalmefenas yra naujausias ir pirmasis patvirtintas vaistas Europoje (2013 m.), skirtas gydyti AVS. Šis vaistas (struktūriškai panašus į naltreksoną) yra miu ( $\mu$ ), delta ( $\delta$ ) ir dalinis kapa ( $\kappa$ ) opioidų receptorių antagonistas. Manoma, kad kapa receptorių gali būti

svarbus tarpininkas alkoholizmo motyvacinuose aspektuose (Soyka & Müller, 2017), tačiau jo tiksli funkcija alkoholio vartojimui nėra aiški.

Nalmefeno pasirenkama gydymo dozė dažniausiai būna 18 mg/dieną. 24 savaites vykdytame tyrime (n=594, aukšta gėrimo rizika), tiriamiesiems buvo duodamos skirtingos nalmefeno dozės arba placebo. Jau 12-tą savaitę rezultatai parodė, kad 20 mg arba 10 mg dozės buvo efektyvios sumažinant suvartojamo alkoholio kiekį (Miyata et al., 2019). Italijoje atliktame tyrime dalyvavo 65 tiriamieji su įvairiais komorbidiniais psichiatriniais sutrikimais (depresija, bipolinis sutrikimas, distimija, generalizuotas nerimas, bulimija, panikos atakos ir kiti sutrikimai). Po 24 savaičių tyrimo, 42 tiriamieji (64.6%) patyrė ženklų ir statistiškai reikšmingą girtuokliavimo dienų, suvartoto alkoholio kiekio bei troškimo vartoti alkoholį sumažėjimą (Di Nicola et al., 2017). Šis tyrimas parodė, kad nalmefenas yra gerai toleruotinas ir efektyvus net ir esant komorbidiniams psichiatriniais sutrikimams, kurie yra gana būdingi nuo alkoholio priklausomiems žmonėms. Ispanijoje atliktame tyrime (n=110) taip pat rastas reikšmingas rezultatas girtuokliavimo dienų sumažėjime (nuo 13.5 iki 6.8 dienų per mėnesį) ir alkoholio suvartojime (nuo 169 iki 79 alkoholio vienetų) (Barrio et al., 2018). Kitame tyrime (n=604), kuris vykdytas 6 mėnesius, nalmefenas buvo lyginamas su placebo veikimu. Dalyviai gydymui gavę nalmefeną sumažino girtuokliavimo dienas (-2.3 dienos) bei bendrą suvartojamo alkoholio kiekį (-11 g/dieną) (Mann et al., 2013).

Viename pirmųjų nalmefeno efektyvumo tyrimų rasta, kad nalmefenas mažina tikimybę alkoholio vartojimo atkryčiui, naudojant skirtingas šio vaisto dozes (20mg ir 80mg) (Mason et al., 1999). Įdomu, kad tyrimai su gyvūnais parodė jog nalmefenas sumažina alkoholio vartojimą tik toms žiurkėms, kurios per vieną gėrimo epizodą išgeria didesnę kiekį labiau koncentruoto alkoholio (Foo et al., 2017). Visuose tyrimuose nalmefenas buvo gerai toleruojamas ir nesukėlė rimtesnių šalutinių reiškinių.

#### **1.4.2.2. Antikonvulsiniai medikamentai**

**Lamotriginas (nuo angl. *Lamotrigine*).** Lamotriginas JAV ir Europoje yra patvirtintas antikonvulsantas epilepsijos ir bipolinio sutrikimo gydymui (McIntyre et al., 2020; Solmi et al., 2016). Lamotriginas slopina Na<sup>+</sup> kanalus, kas sumažina ir glutamato išskyrimą, yra duomenų, kad šis vaistas veikia serotonerginę ir dopaminerginę neurotransmiterių sistemas (Ahmad, Fowler & Whitton, 2004). AVS gydymas lamotriginu vis dar yra pakankamai naujas bandymas spręsti ir palengvinti šio sutrikimo eigą bei pasiekti norimą rezultatą (Vengeliene, Heidbreder & Spanagel, 2007; Zalewska-Kaszubska et al., 2015). Tyrime, kuriame buvo tyrinėjamos žiurkės paaiškėjo, kad panaudojus mažesnę lamotrigino

dozę (5 mg/kg) reikšmingai sumažėjo žiurkių elgesys ieškant alkoholio, o alkoholio deprivacijos efekte (nuo angl. *alcohol deprivation effect; ADE*) žiurkės alkoholio suvartojo reikšmingai mažiau (tiek su 5, tiek 15 mg/kg doze) (Vengeliene et al., 2007)

Kitame lamotrigino tyrime su žiurkėmis buvo stebimas reikšmingas alkoholio kiekio vartojimo sumažėjimas, nepasikeitus alkoholio vartojimo dažnumui (Padula et al., 2013). Tyrime, atliktame su žmonėmis, kurie turėjo priklausomybę alkoholiui ir tokį komorbidinį sutrikimą kaip bipolinis sutrikimas, lamotriginas buvo efektyvus tiek sumažinant norą vartoti alkoholį, tiek sumažino suvartojamo alkoholio kiekį šiems tiriamuosiems, o be šio rezultato tiriamiesiems dar pagerėjo ir nuotaika (Rubio et al., 2006). Lamotriginas neseniai buvo pradėtas vartoti depresijos simptomams mažinti (Goh et al., 2019; Solmi et al., 2016; Zavodnick & Ali, 2012). Šis vaistas buvo pasirinktas dėl poveikio glutamaterginei sistemai, kurios veiklos sutrikimai stebimi tiek depresijos, tiek alkoholizmo patofiziologiniuose mechanizmuose ir taip pat žinomas, kaip efektyviai mažinantis savanorišką alkoholio vartojimą žiurkėms (Vengeliene et al., 2007). Tyrime, kuriame buvo analizuojamas detalus žiurkių gėrimas ir leidžiamas 5 mg/kg lamotriginas abstinencijos pabaigoje, parodė galintis padėti sumažinti išgeriamą alkoholio kiekį (Vengeliene et al., 2013). Antidepresantų, veikiančių glutamaterginės sistemos taikinius rinkoje nėra, tačiau dauguma ikiklinikinių tyrimų su glutamato receptorių antagonistais rodo jų efektyvumą malšinant depresijos simptomus (Corrigan & Pickering, 2019; Gerhard et al., 2016; Murrough et al., 2017).

**Topiramatas (nuo angl. *Topiramate*).** Topiramatas yra antikonvulsinis vaistas, skirtas gydyti epilepsijai. Jis yra glutamato ir GABAA receptorių modulatorius. Iki šiol yra atlikta nemažai tyrimų naudojant topiramatą AVS gydyti ir gauti rezultatai yra įvairūs.

12-os savaitės tyrime, kuriame dalyvavo 106 tiriamieji (53 tiriamieji gavo topiramatą (100-300 mg/dieną), 53 – placebo) nebuvo pastebėtas statistiškai reikšmingas alkoholio suvartoto kiekio skirtumas tarp gavusių vaistą ir placebo grupės (Likhitsathian et al., 2013). Tačiau kitame tyrime paaiškėjo, kad vartojant topiramatą tiriamiesiems pagerėjo savijauta, pasitenkinimas gyvenimu ir šis vaistas sumažino žalingą suvartojamo alkoholio kiekį (Johnson et al., 2004). Kitame tyrime buvo naudojamos nedidelės topiramato dozės (75 mg/dieną) (Paparrigopoulos et al., 2011). Šiame tyrime dalyvavo 90 nuo alkoholio priklausomų žmonių, ir jie buvo suskirstyti į dvi grupes: viena grupė gydoma topiramatu ir kognityvine elgesio psichoterapija (n=30), kita grupė tik psichoterapija (n=60). Rezultatai atskleidė, kad abiejose grupėse sumažėjo depresijos ir nerimo simptomų, tačiau vaistus vartojusi grupė alkoholio vartojimą sumažino labiau. Nepaisant to, po 4 mėnesių buvo susisiektas su tiriamaisiais ir paaiškėjo, kad vaistus vartojusi grupė turėjo statistiškai reikšmingesnį atkritimų procentą (66.7%), negu tiriamieji, kurie gavo tik psichoterapijos seansus (85.5%) (Paparrigopoulos et al., 2011).

Šis vaistas pakankamai gerai toleruojamas, tačiau dar nėra aiškus dozių veikimo mechanizmas, nes jas reikia didinti atitinkamai. Jei vaisto dozės nėra atidžiai koreguojamos gali pasireikšti kognityvinė disfunkcija, anoreksija, kojų ar pirštų nutirpimo jausmas, skonio jautimo anomalijos (Liang & Olsen, 2014).

### 1.4.2.3. Kiti alkoholizmo gydymui skirti medikamentai

**Disulfiramas (nuo angl. *Disulfiram*).** Pirmą kartą disulfiramas buvo patvirtintas priklausomybės nuo alkoholio gydymui 1948 m. JAV ir Europoje (Holt & Tobin, 2018; Witkiewicz et al., 2019). Šį vaistą geriausia skirti pacientams, kurie yra motyvuoti arba jaučia spaudimą iš išorės dėl nebevertojimo (pvz., teisės saugos priežiūra, buvimas namuose, kuriose nevertojamas alkoholis, profesinės licencijos įpareigojimai ar atsiskaitomybė savo partneriui, tėvams) (Witkiewicz et al., 2019). Disulfiramas yra acetildehido dehidrogenazės inhibitorius, slopinantis acetaldehido metabolizmą vertimą į jo inertinį metabolitą, acto rūgštį. Dėl to, kai yra vartojamas alkoholis, įvyksta apsinuodijimas (paraudimas, galvos skausmas, pykinimas ir vėmimas, prakaitavimas ir galvos svaigimas) (Holt & Tobin, 2018). Vartojant šį vaistą net ir labai mažos disulfiramo dozės (250 mg/dieną) iššauks aukščiau minėtas reakcijas. Pacientams, kuriems gydymui paskirtas disulfiramas, aiškus tikslas turi būti abstinencija, užuot sumažėjęs alkoholio vartojimas. Nors šis vaistas pakankamai gerai toleruojamas, tačiau galimi ir šalutiniai poveikiai (pavyzdžiui, hepatitas, psichozė), todėl pacientai turi būti prižiūrimi.

**Akamprosatas (nuo angl. *Acamprosate*).** Akamprosatas (kitai žinomas kaip *Campral*, *Aotal*, *Regtect*) Europoje (kiek vėliau JAV, Kanadoje ir Japonijoje) buvo patvirtintas 1989 m. (Witkiewicz et al., 2019). Tikslus akamprosato veikimo mechanizmas išlieka neaiškus. Istoriskai buvo manoma, kad akamprosatas veikia atkurdamas GABAerginių ir glutamaterginių neurotransmiterių sistemų pusiausvyrą (moduliuodamas hiperaktyvias glutamatergines būsenas, galbūt veikdamas kaip N-metil-d-aspartato receptorių (NMDA) agonistas (Plosker, 2015; Witkiewicz et al., 2019), nors pastaruoju metu tyrimai rodo, kad jis gali veikti kalcio metabolizmą (Holt & Tobin, 2018). Gydymas kalcio karbonatu, pilotinio klinikinio tyrimo metu, sumažino alkoholio nutraukimo simptomus ir potraukį alkoholiui (Schuster et al., 2021). Dar vienas tyrimas su žiurkėmis parodė, kad akamprosato veikimas gali būti priskiriamas kalciumi ir šis vaistas neveikia per glutamaterginę sistemą (Spanagel et al., 2014).

Metaanalizė, atlikta 2013 m. (Maisel et al., 2013), parodė, kad šis vaistas turi mažą ar vidutinį gydomąjį efektą, palyginti su placebo, o kituose didelio masto tyrimuose, atliktuose JAV (Anton et al., 2006) ir Vokietijoje (Mann et al., 2013), nepavyko rasti statistiškai reikšmingo skirtumo tarp šio vaisto

efektyvumo ir placebo grupių, bet taip galėjo nutikti ir dėl to kaip tiriamieji buvo gydomi, nes dažniausiai šis vaistas buvo skiriamas su psichosocialinėmis ar psichologinėmis intervencijomis (Plosker, 2015).

Manoma, kad akamprostatas labiau veiksmingas abstinencijos palaikymui ir sunkaus girtavimo (angl. *heavy drinking*) dienų mažinimui, tačiau jis gali būti efektyviausias pacientams, kurie šiuo metu visiškai nevartoja alkoholio (Jonas et al., 2014; Witkiewitz et al., 2019). Taip pat yra žinoma, kad akomprostatas, gydant AVS turinčius pacientus, gali padėti esant depresijai ar nemigai (Plosker, 2015).

#### **1.4.2.4. Alkoholizmo gydymas per melatoninerginę sistemą**

**Melatoninas (nuo angl. *Melatonine*).** 1958 metais dermatologas A. B. Lerner su kolegomis atrado kankorėžinėje liaukoje gaminamą hormoną ir pavadino jį melatoninu (Lerner et al., 2002). Melatonino gamyba pagal gamybos vietą skirstoma į du tipus: pagrindinė, kuri vyksta kankorėžinėje liaukoje (jos ląstelėse) ir papildoma, kuri vyksta kitose organizmo ląstelėse. Nakties metu, tamsoje vyksta melatonino sintezė (Axelrod et al., 1965). Kankorėžinėje liaukoje sintetintas melatoninas su krauju išnešiojamas po visą organizmą ir veikia organus, kuriuose yra melatonino receptoriai (Zawilska et al., 2009). Jis jungiasi su melatonino receptoriais MT1 ir MT2 virškryžminame branduolyje (nuo angl. *suprachiasmatic nucleus*) ir vaidina pagrindinį vaidmenį miego ir budrumo cikle (Doghramji, 2007). Melatoninas organizme atlieka arba prisideda prie daugelio organizmo funkcijų, bet svarbiausi melatonino veiklos aspektai yra miego reguliacija, paros bioritmų reguliavimas ir mieguistumo bei kūno temperatūros mažinimas (Macchi & Bruce, 2004; Wu & Swaab, 2005; Zawilska et al., 2009).

Miego kokybę daugiausia atspindi kiekybiniai parametrai, tokie kaip bendras miego laikas, NREM/REM miego procentas, REM miego latentiškumas, REM miego epizodo trukmė ir panašiai. Pastaruoju metu mokslininkai stengiasi iširti terapinį potencialą, kaip atkurti įprastą priklausomų žmonių miego struktūrą, gydant AVS (Campbell et al., 2020; Vengeliene et al., 2015).

Melatoninas ir melatonino agonistai turi chronobiotinį poveikį, o tai reiškia, kad jie gali pakoreguoti organizmo cirkadinę sistemą (Salva et al., 2011).

Alkoholizmo gydymas melatoninu yra dar visai novatoriškas bandymas, bet jau yra randama keletas tyrimų, kurie bando taikyti šį gydymo būdą. Tyrimai su gyvūnais siūlo naudoti junginius, nukreiptus į atlygio ir melatoninerginę sistemas. Oreksino neuronai koordinuoja sužadimą, energijos homeostazę ir reguliuoja miego/budrumo ciklą (Inutsuka & Yamanaka, 2013), o melatoninas sinchronizuoja kūno elgesį ir fiziologines funkcijas susijusias su dieniniu ir naktiniu elgesiu (Buijs et al.,

2003). Įrodyta, kad farmakoterapija, nukreipta į šias sistemas, veiksmingai mažina alkoholio ieškojimą ir atkryčio patyrimą žiurkėms (Lawrence et al., 2006; Vengeliene et al., 2015).

Pirmasis ir kol kas vienintelis pilotinis tyrimas žmonėms, gydant AVS tik melatoninu, atliktas 60-iai tiriamųjų (Gendy et al., 2020), kur 30-iai žmonių, 4 savaites, buvo skirtas melatoninas (5 mg/parą) ir 30-iai žmonių – placebo. Tiriamieji prieš prasidedant tyrimui turėjo 3-4 savaites visiškai nevartoti alkoholio. Miego kokybės pokytis, kuris buvo pagrindinis tyrimo rezultatas, buvo įvertintas naudojant Pitsburgo miego kokybės indekso (PSQI) skalę. Melatonino vartojimas nesiskyrė nuo placebo mažinant miego sutrikimus po 4 gydymo savaitių, tačiau autoriai sako, kad ateityje būtų verta išmėginti ir didesnę melatonino dozę (Gendy et al., 2020).

Kiek ankstesnis tyrimas panaudojo agomelatiną (nuo angl. *Agomelatine*) ir melatoniną alkoholizmo tyrime naudojant žiurkes (Vengeliene et al., 2015). Agomelatinas yra stiprus MT1 ir MT2 receptorių agonistas ir 5-HT<sub>2C</sub> antagonistas. Vaistas sumažino žiurkių alkoholio gėrimo atkrytį. Prieš pat tamsą (tuo metu kai prasideda fiziologinė melatonino sintezė) žiurkėms suleidžiant agomelatino (30 ml/kg) ar melatonino (50 ml/kg) buvo reikšmingai sumažinamas alkoholio kiekio išgėrimas, tačiau, kai melatoninas buvo suleidžiamas nevykstant jo fiziologinei sintezei (šviesios fazės pradžioje), išgeriamo alkoholio kiekis sumažėjo nereikšmingai (Vengeliene et al., 2015). Leidžiant melatoniną prieš pat tamsą jis veikia cirkadinį ritmą, o fazės postūmis ir yra vienas svarbiausių faktorių gydant alkoholizmą, nes stabilizuojant cirkadinį ritmą, galima susilpninti ir su alkoholio gėrimu susijusį elgesį. Yra tyrimų, parodančių, kad mažos fiziologinės melatonino dozės (0.2-5 mg/kg) padidina išgeriamą alkoholio kiekį žiurkėse (Crespi, 2012; Smith et al., 1980).

Nors buvo apžvelgti ne visi medikamentai, kuriais yra bandoma gydyti priklausomybę nuo alkoholio, tačiau matome, kad vaistų įvairovė yra didelė, tačiau dauguma siūlomų vaistų pačios priklausomybės nuo alkoholio negydo, o padeda žmogui neatkristi iš abstinencijos laikotarpio ar jį lengviau išverti, mažina patiriamą potraukį alkoholiui. Apibendrinant, ir toliau atliekami įvairūs alkoholizmo gydymo tyrimai, kurių didžioji dauguma teikia vilties ateičiai, o nauji atradimai tikėtina palengvins AVS gydymą. Viena pagrindinių kliūčių kuriant veiksmingus vaistus, skirtus gydyti priklausomybę nuo alkoholio, yra ta, kad alkoholis neturi vieno molekulinio taikinio, o veikia įvairius neurotransmiterių receptorių, jonų kanalus, transporterius ir kitus aspektus.

## 1.5. IKIKLINIKINIAI PRIKLAUSOMYBĖS TYRIMAI IR GYVŪNŲ MODELIAI

Laboratoriniai gyvūnai yra labai svarbūs įrankiai patologinių mechanizmų nustatymui ir vaistų kūrimui. Tyrimuose įvairūs priklausomybių neurobiologiniai etapai yra tyrinėjami pasitelkus laboratorines žiurkes, kiek rečiau kitus graužikus, nes šie gyvūnai turi gerai struktūruotą centrinę nervų sistemą, kurioje neurocheminės ir molekulinės trajektorijos požievis srityse gana gerai atitinka tuos, kurie būdingi ir žmonėms (Koob & Volkow, 2016). Nepaisant įvairių diskusijų, yra manoma, kad gyvūniniai priklausomybės modeliai suteikia norimą validumą, nes neurocheminiai ir neuroanatominiai pokyčiai laboratoriniuose graužikuose, atsiradę dėl psichoaktyvių medžiagų vartojimo, yra panašūs į pokyčius, stebimus žmonių organizmuose.

Akivaizdu, kad priklausomybė yra žmogiškas reiškinys ir todėl ją yra labai sunku sukelti gyvūnams dėl neišvengiamų rūšinių ir laboratorinių apribojimų. Vis dėlto, kai kuriuos priklausomybės elgesio požymius, tokius kaip padidėjęs alkoholio vartojimas po užsitęsusios abstinencijos, laboratoriniuose gyvūnuose galima modeliuoti (Spanagel, 2017). Tačiau yra sunkumų priversti standartines laboratorines žiurkes savanoriškai vartoti didelius kiekius alkoholio, nenaudojant papildomų iniciacijos procedūrų, tokių kaip alkoholio vartojimas su pridėta sacharozė, maisto ir vandens nepriteklus, gėrimo susiejimą su atpildo jausmą sukeliančia smegenų elektrine stimuliacija ir galimybės vartoti alkoholį apribojimu (Simms et al., 2008). Nepaisant šių pastangų, žiurkės retai suvartoja pakankamus kiekius alkoholio, būtinus priklausomybei atsirasti. Dėl šios priežasties yra naudojamas selektyvus veisimas tų žiurkių, kurios, turėdamos pasirinkimą tarp vandens ir alkoholio, teikia pirmenybę alkoholiui.

### 1.5.1. Validumo reikalavimai gyvūnų priklausomybės modeliams

Gyvūnų priklausomybės modeliai yra pagrįsti manipuliavimu aplinka arba jų biologinėmis savybėmis (Abelaira et al., 2013). Yra keliami keli kriterijai gyvūnų modeliams (Abelaira et al., 2013):

1. Išorinis validumas (nuo angl. *face validity*) – elgesio ypatybės turėtų būti panašios į simptomus, pastebėtus žmonėms, turintiems atitinkamą sutrikimą;
2. Konstrukto validumas (nuo angl. *construct validity*) – patofiziologiniai pokyčiai, kurie atsiranda žmonėms, sergantiems atitinkamu sutrikimu, turi atsirasti ir gyvūnams;



3. Numatomas validumas (nuo angl. *predictive validity*) – ar gyvūno elgesys, reaguojant į konkrečią eksperimentinę manipuliaciją, koreliuoja su žmogaus būklės atsaku į tą patį nepriklausomą kintamąjį (pavyzdžiui, farmakologinis gydymas).

Ekspirimentinės procedūros turi būti kaip įmanoma paprastesnės, taip padidinant jų validumą ir patikimumą bei atkuriamumą. Ir atvirkščiai, procedūros turi būti kiek įmanoma holistiškesnės, tokiu būdu didinant atitikimą žmonių gyvenimo situacijoms (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Pastaruoju metu yra dažnai naudojamos graužikų alkoholio savaranoriško vartojimo procedūros, nukreiptos į pagrindinį geriančių žmonių elgesio bruožą (t.y., laisvą pasirinkimą), taip padidinant išorinį ir konstrukto tokio modelio validumą (Spanagel, 2017).

Alkoholio koncentracija yra kritinė šių procedūrų problema, nes maža ar per didelė koncentracija gyvūnams gali būti per daug patraukli ar atstumianti dėl atitinkamai švelnaus, saldaus ar atgrausaus skonio savybių (Vengeliene et al., 2009). Per mažas suvartoto alkoholio kiekis gali sukelti tik nežymų alkoholio kiekio padidėjimą smegenyse ir ženkliai žiurkės elgesio nepakeisti. Taigi, paprastai manoma, kad mažesnė nei 4% etanolio koncentracija nesukels farmakologiškai reikšmingų pokyčių, ir graužikų vartojimui tinkamas standartas yra 8-12% (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Kita vertus, dauguma graužikų greičiausiai negers stipriai koncentruoto alkoholio tirpalo dėl jo kartaus skonio, todėl buvo sukurtos kelios procedūros, skirtos graužikams „išmokyti“ išgerti reikšmingus alkoholio kiekius. Alternatyvi strategija norint gauti aukštą alkoholio vartojimą yra naudoti genetiškai parinktas graužikų linijas, turinčias įgimtą alkoholio rinkimosi norą (Bell et al., 2012), tačiau ši strategija gali sumažinti apibendrinimo galimybes (nuo angl. *translatability*) bendrai žmonių populiacijai.

### 1.5.2. Gyvūnų modeliai

Ikiklinikinių priklausomybės nuo alkoholio tyrimams vienas iš pagrindinių iššūkių tebėra tinkamų paradigmu ir modelių kūrimas, kurios paskatins suvartoti daug alkoholio ir imituos laipsnišką perėjimą nuo mažo ar vidutinio sunkumo gėrimo prie chroniško alkoholio vartojimo (Carnicella et al., 2014). Kaip jau buvo minėta, gyvūnų modeliai, kur yra sudarytos sąlygos savanoriškam alkoholio vartojimui (esant operantinėms sąlygoms arba ne) pakankamai gerai atspindi priklausomybės modelį, remiantis DSM-5 priklausomybės aprašu. Žemiau yra pristatomi pagrindiniai būdai, kuriais remiantis laboratoriniams gyvūnams yra sukeliama priklausomybė nuo alkoholio.

### 1.5.2.1. Alkoholizmo modeliai

**Alkoholio inhaliacijos** (nuo angl. *vape exposure, alcohol vapor, alcohol inhalation*) metu yra įkvėpiami alkoholio garai. Šis metodas turi tam tikrų pranašumų, palyginti su kitomis chroniško alkoholio poveikio procedūromis, kuriomis siekiama sukelti žiurkių priklausomybę nuo alkoholio. Lėtinis alkoholio garų įkvėpimas leidžia eksperimentuotojui kontroliuoti alkoholio dozę, trukmę ir pobūdį, ši procedūra nėra invazinė (Gilpin et al., 2008). Be to, ši procedūra palengvina somatinių ir motyvacinių priklausomybės nuo alkoholio aspektų testavimą. Lėtinis alkoholio garų poveikis padidina alkoholio vartojimą, tačiau padidina ir į nerimą panašų elgesį ir žiurkių atlygio sistemos deficitą. Alkoholio garų įkvėpimo metodas yra lankstus, todėl šios procedūros parametrus galima pakoreguoti atsižvelgiant į konkrečius skirtingų eksperimentų tikslus (Gilpin et al., 2008).

Šio, ir kitų, metodo metu išsivysčiusią priklausomybę nuo alkoholio gali išoriškai parodyti fiziniai simptomai. Fiziniai priklausomybės nuo alkoholio aspektai paprastai pasireiškia ūmiai nutraukus ilgalaikį alkoholio poveikį ir išsisklaido per pirmąsias 48 valandas be alkoholio. Šie simptomai yra panašūs į įvairiuose gyvūnų rūšyse, o žiurkėms būdinga: bendrasis hiperaktyvumas, uodegos spazmai/drebulys, bendri kūno spazmai/drebulys, galvos drebulys, purtymasis ir dantų griežimas bei spontaniški toniniai-kloniniai traukuliai (Majchrowicz, 1975). Kadangi alkoholis žiurkėms bei žmonėms suteikia anksiolitinį poveikį, pirmas požymis nutraukus alkoholio vartojimą – nerimas (Gallate et al., 2003). Stebimas ir padidėjęs troškimas/potrakis vėl vartoti alkoholį.

Deja, šis metodas reikalauja specialios įrangos, įmontuotos į narvelių aplinką, arba atskirų priemonių, kad būtų galima gyvūnui įkvėpti alkoholio garus. Paprastai, suaugusiai žiurkei alkoholio inhaliacijos rekomenduojamos pradėti bent nuo 8 savaičių amžiaus, inhaliacijos metodo trukmė priklauso nuo norimų rezultatų, tačiau vidutiniškai intensyvios inhaliacijos trunka 2-3 savaites (Gilpin et al., 2008).

Stebimi keli metodo trūkumai. Dažniausiai pasitaikantis – apsinuodijimas alkoholio garais. Tyrėjas turėtų laiku sumažinti garų dozę, trukmę ir dažnumą bei gyvūnui skirti laiko atsigauti, jei stebimi itin intensyvūs traukuliai, galima skirti farmakologinį gydymą (pavyzdžiui, skirti benzodiazepinus). Kitas trūkumas – kūno svoris. Gyvūnai visada sveriami prieš ir po inhaliacijos procedūros, svorio netekimas rodo rimtus sveikatos sutrikdymus, galimai apsinuodijimą. Tačiau net ir išvengiant apsinuodijimo alkoholio garais, pastebėta, kad šiuo metodu sukeltą priklausomybę, gyvūnai vis tiek nepriauga tiek kūno svorio, kiek nuo alkoholio nepriklausomos kontrolinės žiurkės. Ištirta, kad alkoholio inhaliacija žiurkėms (8 savaičių ilgumo) sukelia kepenų, plaučių, širdies bei kraujagyslių pakitimus ir disfunkcijas

(Mouton et al., 2016). Alkoholio garų metodas, sukeliantis audinių pažeidimus turi didelę galimybę būti plačiai naudojamas alkoholio toksikologijos tyrimuose.

Šis metodas, nors plačiai naudojamas alkoholizmo tyrimuose, tačiau susilaukia kritikos, nes turi žemą išorinį validumą, kadangi žmonės paprastai nekvėpuoja alkoholio garais ar nėra priverstinai verčiami gerti alkoholio dideliais kiekiais ir ilgą laiką (Vendruscolo & Roberts, 2014).

**Alkoholio įvedimas į skrandį** (nuo angl. *Intragastric alcohol administration*). Tokiu metodu alkoholis pateikiamas per vamzdelį, tiesiai į gyvūno skrandį, dažnai didelėmis dozėmis, 3-5 kartus per dieną (Majchrowicz, 1975) ir leidžia tyrėjui kontroliuoti gyvūnui skiriamą alkoholio dozę, trukmę ir poveikį. Tačiau stebimi ir nepageidaujami šalutiniai reiškiniai. Yra pakankamai sunku palaikyti pastovų alkoholio kiekį kraujyje, metodas invazyvus, o jei norima, kad gyvūnas savarankiškai pats naudotų alkoholį – reikia ir specialios chirurginės operacijos (Fidler et al., 2006). Didelė rizika, kad gyvūnas gali patirti komos būseną arba mirti nuo perdozavimo (Gilpin et al., 2008).

**Ilgalaikis savanoriškas gėrimas, laisvas pasirinkimas** (nuo angl. *Long-term voluntary alcohol drinking*). Šio modelio esmė yra tuo pačiu metu suteikti gyvūnui neribotą prieigą prie skirtingų butelių, iš kurių bent vienas yra pripildytas alkoholiu, o kitas – paprastu vandeniu (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Žiurkės, kurioms taikomos ilgalaikės savanoriško alkoholio vartojimo procedūros, palaipsniui keičia savo elgesį nuo kontroliuojamo alkoholio vartojimo iki kompulsinio. Tai rodo, kad savanoriškas alkoholio vartojimo modeliavimas žiurkėms, tam tikru mastu, atspindi nuo alkoholio priklausomų žmonių elgesį, ir tai reiškia, kad šis modelis turi aukštą išorinį validumą (Vengeliene et al., 2009). Laboratorinių žiurkių savanoriškas alkoholio vartojimas yra neretai skatinamas, naudojant pagalbinę procedūrą, pavyzdžiui, pridėdant į alkoholį sacharozės ar ribojant prieigą prie vandens/maisto; tačiau pašalinus iniciacijos veiksnius, alkoholio suvartojimas paprastai sumažėja (Carnicella et al., 2014). Dažniausi priklausomi kintamieji šiuose ne operantinėse savarankiško vartojimo alkoholio modeliuose yra sunaudoto gryno etanolio kiekis (išreikštas g tenkančiais 1 kg kūno svorio), jo santykinis pasirinkimas vandens atžvilgiu ir bendras suvartojamo skysčio kiekis. Skirtinguose tyrimuose yra taip pat ištirti veiksniai, galintys turėti įtakos alkoholio vartojimui – turimų butelių ir (arba) kitų pastiprinimų skaičių ir rūšį, įtraukiamą ankstesnį operantiškai išmoktą elgesį (Spanagel, 2017). Alkoholio vartojimas padidėja, kai pateikiamas didesnis skaičius alternatyvių alkoholio tirpalų (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Šis, savanoriško gėrimo modelis, buvo atgavintas tik pastarąjį dešimtmetį ir vis labiau populiarėja dėl savo paprastumo, aukšto validumo ir patikimų rezultatų (Carnicella et al., 2014).

**Alkoholio gėrimas su petraukomis.** Procedūros be inicijavimo etapo, apimančios pertraukiamą prieigą prie 2 butelių metodo (kur vienas yra vanduo, o kitas alkoholis) pirmą kartą buvo pristatytos

aštuntojo dešimtmečio pradžioje (Wise, 1973). Wise buvo pirmasis mokslininkas, kuris tyrė reguliarią ir protarpinį alkoholio poveikį, norėdamas sužinoti, ar gyvūnai geria daugiau su pertraukomis, nei nuolatinio priėjimo sąlygomis. Suaugusiems Wistar žiurkių patinams buvo įvertintas 20% etanolio tirpalų suvartojimas, naudojant įvairias etanolio ekspozicijos formas. Kai kurie gyvūnai pirmiausia buvo veikiami palaipsniui didėjančiais silpnais alkoholio tirpalais (aklimatizacija); o kitiems nuo pat pradžių buvo duodamas 20% alkoholis. Kai kuriems buvo duodama vartoti alkoholio kiekvieną dieną (nuolatinis grafikas); kitiems alkoholio duodavo kas antrą dieną (su pertraukomis). Kai kuriems gyvūnams taip pat buvo duodamas alkoholis ir paprastas vanduo (galima pasirinkti laisvai tarp dviejų buteliukų); kitiems buvo duotas alkoholis kaip vienintelis prieinamas skystis (priverstinis pasirinkimas). Gyvūnai, kurie gavo pertraukiamą prieigą, suvartojo daugiau 20% alkoholio, nei reguliariai geriančios grupės, turinčios nuolatinį priėjimą (Wise, 1973). Kiti faktoriai didelės įtakos neturėjo. Toks metodas ir toliau taikomas tyrimuose (Hwa et al., 2011). Padidėjusį išgėrimą, turint ne nuolatinę prieigą prie alkoholio, užfiksavo ir kiti moksliniai tyrimai (Carnicella et al., 2014).

**Operantinis salygojimas** (nuo angl. *Operant conditioning*). Operantinio alkoholio vartojimo procedūra taip pat turi privalumų ir trūkumų. Skirtingai nei savanoriškas alkoholio vartojimas įprastame, gyvenamajame narve, operantiniam savanoriškam vartojimui reikia pakankamai ilgo mokymo laikotarpio, tačiau net ir tada ne visi gyvūnai stabiliai vartos alkoholį. Tyrėjas turi įdiegti operantinį elgesį (pavyzdžiui, svirties paspaudimą), kurio dauguma žiurkių lengvai neatliks dėl skysčio, kurį žiurkės ne taip noriai renkasi vartoti, palyginus su kito pobūdžio (pvz., saldžiu) skysčiu (Vendruscolo & Roberts, 2014). Todėl, norint išmokyti žiurkės paspausti svirtį ir suvartoti alkoholio tirpalą, galima pirma naudoti paskatinančius saldžius tirpalus ir ilgus apmokymus. Tačiau operantinis alkoholio vartojimas yra universalus elgesys, ir pasiekus stabilų operantinį elgesį, tai yra labai gero validumo gyvūnų modelis skirtas priklausomybės tyrimams ir vaistų testavimui.

Kitos procedūros, susijusios su ne operantiniiais alkoholio savarankiško vartojimo modeliais, reikalauja sudėtingesnių eksperimentinių sprendimų. Tyrimuose gali būti naudojami likometeriai ar panašūs prietaisai, skirti analizuoti mikrostruktūriniam alkoholio vartojimui (Marcucella & Munro, 1986; Vengeliene et al., 2013). Tokio tipo tyrimų vis dar nėra daug, tačiau jau buvo įrodyta, kad konkrečius gyvūno elgesio pokyčius galima susieti su specifinių nervų sistemos aktyvumu (Gill et al., 1996) arba su tokių savybių atsiradimu kaip priklausomybė ar kompulsyvus elgesys (Vengeliene et al., 2013). Šios sistemos taip pat galėtų būti naudingos diferencijuojant alkoholio vartojimą dėl jo farmakologinio efekto nuo to, kurį įtakoja kiti veiksniai, tokie kaip skonis ir sotumas (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Todėl

reikalingi ir tolimesni tyrimai, kurie apimtų platesnį tyrinėjimą (pavyzdžiai, gėrimo stilių, specifinius elgesio pasikeitimus) ir suteiktų kokybinį supratimą apie vartojamą alkoholį.

### 1.5.2.2. Elgesio sutrikimams sukelti skirti modeliai

Tik natūralūs skirtumai tarp žiurkių gali būti per menki norint tyrinėti elgesio skirtumus, todėl yra naudojamos įvairios, dažniausiai, farmakologinės, intervencijos. Šiame skyrelyje aptarsiu tik kelis, vienus iš dažniausiai naudojamų metodų elgesio pokyčiams sukelti (neretai bandoma sukelti depresiją, nes alkoholizmas ir depresija, kaip buvo aptarta anksčiau, – tarpiai susiję).

**Žiurkių naujagimių depresijos modelis (nuo angl. *Neonatal exposure to antidepressant model of depression*).** Elgesio pokyčiai sukeliama naudojant antidepresantus, ir remiasi REM miego sutrikdymu (Savelyev et al., 2012; Yavari et al., 1993). Buvo įrodyta, kad graužikų smegenys maksimalų augimo greitį pasiekia 5-10 dienų po gimimo ir toliau vystosi iki 21-28 dienos po gimimo, todėl šiame modelyje renkama naudoti antidepresantus ankstyvoje gyvenimo stadijoje: dažniausiai 8-21 dienos po gimimo (McDowell et al., 2012; Savelyev et al., 2012). Taigi, šiame modelyje žiurkių jaunikliams vieną kartą per dieną (nuo 8-os ponatalinės dienos iki 21-os) yra leidžiami antidepresantai, pvz., selektyvūs serotonino transporterio inhibitoriai (SSRI). Miego architektūros anomalijos šiame modelyje atsiranda dėl laikino farmakologinio įsikišimo į serotinerginės sistemos vystymąsi ankstyvuojų brendimo laikotarpiu. Šis serotonino sistemos sutrikdymas sukelia REM fazės latencijos sutrumpėjimą (Savelyev et al., 2012; Vogel et al., 1990). Suaugusiuose gyvūnuose taip pat buvo pastebėti panašūs į depresiją elgsenos pokyčiai (Wang et al., 2015). Ankstyvas serotinerginio aktyvumo trikdimas turi įtakos citoarchitektūriniam smegenų struktūros parametrui, tokiems kaip tankis, arborizacija ir serotoninerginė projekcijų pokyčiai (Deneris & Gaspar, 2018) bei sukelia ilgalaikius serotoninerginio neurotransmisijos pokyčius. Pavyzdžiui, mikrodializės tyrimas (nuo angl. *No-net-flux microdialysis*) parodė, kad suaugusių pelių, kurios buvo paveiktos anstyvajame amžiuje escitolapramu, hipokampo tarpląstelinis serotonino kiekis yra reikšmingai sumažėjęs (Altieri et al., 2015). Yra duomenų, kad šis modelis žiurkėse gali sukelti į autizmą panašius bruožus (Khatri, Simpson, Lin & Paul, 2013).

**Lėtinio lengvo streso depresijos modelis (nuo angl. *The chronic mild stress (CMS) model of depression*).** Originaliai šis modelis buvo pradėtas vystyti dar 1980-aisiais Katz ir kolegų. Šiame modelyje graužikai yra nuolat veikiami nuolatiniiais nenuspėjamais mikrostressoriais, dėl ko išsivysto gausybė elgsenos pokyčių, įskaitant sumažėjusį atsaką į atlygį, ir kitus elgsenos pokyčius, panašius į klinikinius depresijos simptomus (pvz., padidėjęs bejėgiškumas) (Willner, 2017). Jautrumas atlygiui

stebimas atliekant bandymus, kurių metu gyvūnui suteikiama prieiga prie labiausiai pageidaujamo saldaus tirpalo arba pasirinkimas tarp saldaus tirpalo ir paprasto vandens. Pirmenybė saldžiam tirpalui sumažėja per kelias savaites, tačiau ją galima atkurti chroniškai gydant antidepresantais (Willner, 2017).

**Genetiniai modeliai.** Tai yra selektyviai veisiamos graužikų linijos, kurios yra veisiamos pagal norimą elgesio požymį, pvz. linijos turinčios stipriau išreikštą su depresija susijusį elgesį (pvz. FLS linija, nuo angl. *Flinders Sensitive*) ar didesnį/mažesnį baikštumą (pvz., HAB/LAB linijos, nuo angl. *High/Low Anxiety-Related Behavior*) (Crabbe, 2008). Taip pat yra naudojami gyvūnai turintys selektyviai sukeltą tam tikro geno mutaciją bei transgeniniai gyvūnai. Tyrimams yra įdomūs tie genai, kurie įtakoja gyvūno elgesį – pvz. pirmenybės teikimas alkoholiui ar mažų alkoholio kiekių gėrimas (pavyzdžiui, *Grm2* mutantės žiurkės, Crabbe, 2008). Esamų genetinių gyvūnų modelių įvairovė yra labai didelė, ir jie vaidina nepakeičiamą vaidmenį genetinių faktorių įtakai psichikos sutrikimams tirti.

Psichiatrinių būsenų gyvūniniai modeliai, kurie sukelia elgesio pokyčius ir yra homologiški, palyginus su žmonių psichikos sutrikimų požymių spektru. Tačiau nepaisant to, gyvūnai gali būti naudojami kaip eksperimentinės priemonės, padedančios geriau suprasti žmogaus psichopatologiją (Willner, 2009).

## 2. METODIKA

### 2.1. Laboratoriniai gyvūnai

Šiame tyrime, escitalopramo eksperimente, buvo naudojami 8 dienų Wistar žiurkių patelės (n=41, svoris apie 20 g) ir patinai (n=40, svoris apie 20 g) ir alkoholio gėrimo matavimuose, naudojant gėrimo registravimo sistemą, buvo naudojami 2 mėnesių Wistar žiurkių patinai (n=26, svoris apie 350 g). Visos žiurkės buvo išveistos Vilniaus universiteto, Gyvybės mokslų centro vivariume. Visi escitalopramo eksperimente naudoti gyvūnai buvo laikomi grupėmis po 4, o alkoholio, cukraus tirpalo ir kvinino tirpalo gėrimo matavimų metu – po vieną standartiniuose žiurkių narvuose, naudojant 12/12 valandų dirbtinės šviesos/tamsos ciklą (apšvietimas 7:00 ryto). Buvo palaikoma pastovi kambario temperatūra (temperatūra:  $22 \pm 1$  ° C). Standartinis laboratorinis žiurkių maistas ir geriamas vanduo buvo tiekiamas *ad libitum* per visą eksperimentinį laikotarpį. Žiurkės buvo sveriamos 1 kartą per mėnesį. Visas eksperimentines procedūras patvirtino Lietuvos Respublikos valstybinė maisto ir veterinarijos tarnyba, ir atliekamas vadovaujantis Lietuvos Respublikos gyvūnų gerovės ir apsaugos įstatymo 16 straipsnio 4 dalimi, Mokslo ir mokymo tikslais naudojamų gyvūnų laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimais, patvirtintais Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos direktoriaus 2012 m. spalio 31 d. įsakymu Nr. B1-866 „Dėl Mokslo ir mokymo tikslais naudojamų gyvūnų laikymo, priežiūros ir naudojimo reikalavimų patvirtinimo“, Europos konvencija dėl eksperimentiniais ir kitais mokslo tikslais naudojamų stuburinių gyvūnų apsaugos (OL 2004 m. specialusis leidimas, 15 skyrius, 4 tomas, p. 325) ir remiantis Lietuvos bandomųjų gyvūnų naudojimo etikos komisijos prie Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos

### 2.2. Naudojama įranga

Alkoholio vartojimas ir su tuo susijusi elgsena buvo registruojami visoms žiurkėms pasitelkus kelias skirtingas įrangas:

- 1) Likometeriniai narveliai arba Gėrimo Registravimo Sistema (GRS, Coulbourn Instruments, JAV), tai yra kameros, specialiai pritaikytos laikymui po vieną žiurkę, kuriose yra suteikta laisva prieiga prie dviejų buteliukų, ir į abi gėrimo angas įmontuota speciali įranga gėrimo elgesiui registruoti. GRS sudaro keturių sienelių skaidrios „Plexiglas“ kameros su ventiliuojamais dangčiais (matmenys: vidinis grindų plotas 40 cm × 40 cm × 50 cm aukštis). Kiekvienoje kameroje yra dvi angos, esančios išilgai

galinės sienos, į kurias yra įdėti gėrimo vamzdeliai. GRS veikimas yra paremtas infraraudonos šviesos srauto pertraukimu, kas įvyksta gyvūnui liežuviu paliečiant gėrimo vamzdelio galą. GraphicState 4.1.06 programinė įranga registruoja laiką ir trukmę, kada šviesos spindulys yra nutraukiamas žiurkės liežuvio prisilietimo prie geriamosios indo dalies metu. Sistema gali fiksuoti iki dvidešimt penkių lyžtelėjimų per sekundę.

2) Lokomotorinis 24 val. aktyvumas buvo fiksuojamas filmavimo kamera (IP kamera bullet, Hikvision, Kinija), įtvirtinta virš Likometerinio narvo, ir pozicinė žiurkės informacija buvo automatiškai registruojama Biobserve programine įranga.

3) Atviro lauko testas ir socialinis elgesys buvo atlikti atviro lauko dėžėje, pagamintoje iš tamsiai pilko polivinilchlorido (PVC, Heliopolis, Lietuva). Dėžės išmatavimai yra 50 × 50 × 50 cm.

4) Porsolt plaukimo testas buvo daromas naudojant skaidraus „Plexiglas“ cilindą, kurio aukštis yra 46 cm, o skersmuo – 20 cm.

### **2.3. Naudojamos medžiagos**

1) Geriamieji alkoholio tirpalai buvo ruošiami iš 96% etanolio (Vilniaus degtinė, Lietuva) ir tada praskiesti geriamuoju vandeniu.

2) Escitalopramas (10 mg/kg). Escitalopramas (AH diagnostics A/S, Danija) buvo ištirpdomas fiziologiniame skystyje ir suleistas 3 ml/kg po oda (SC).

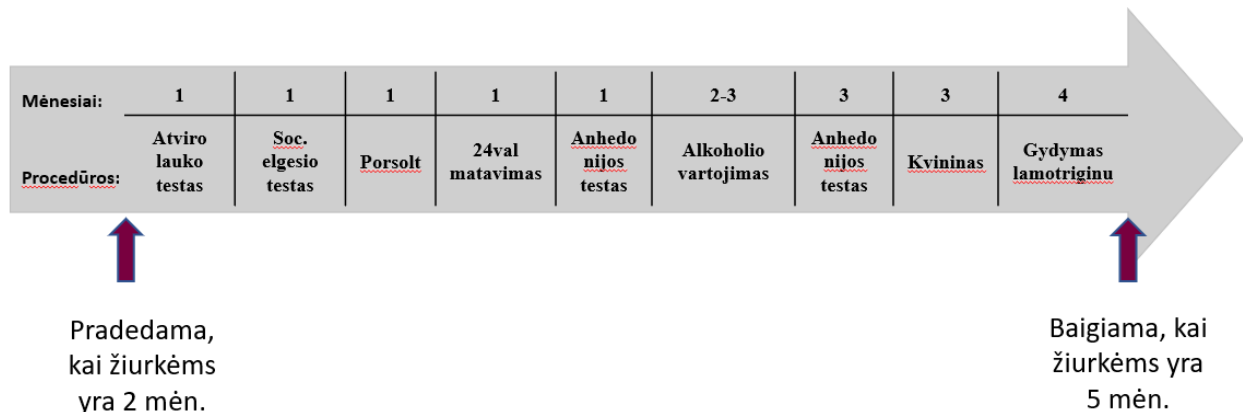
3) Lamotriginas (5 mg/kg ir 10 mg/kg). Lamotriginas (Abbvie, Vokietija) buvo ištirpintas polietilenglikolyje 400 (PEG 400, SigmaAldrich Co., JAV) ir tada praskiestas injekciniu vandeniu (Fresenius Kabi, Lenkija) iki galutinės 10% PEG 400 koncentracijos. Tirpalas buvo suleistas 3 ml/kg į pilvaplėvės ertmę (IP).

4) Melatoninas (40 mg/kg). Melatoninas (AH diagnostics A/S, Danija) buvo suspenduotas 0,5% metilceliuliozėje (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Vokietija) ir suleistas 3 ml/kg į pilvaplėvės ertmę (IP). Kontroliniai gyvūnai gavo vienodą kiekį atitinkamo kontrolinio tirpalo, kuris buvo leidžiamas tuo pačiu būtu kaip ir testuojama medžiaga.



## 2.4. Tyrimo eiga

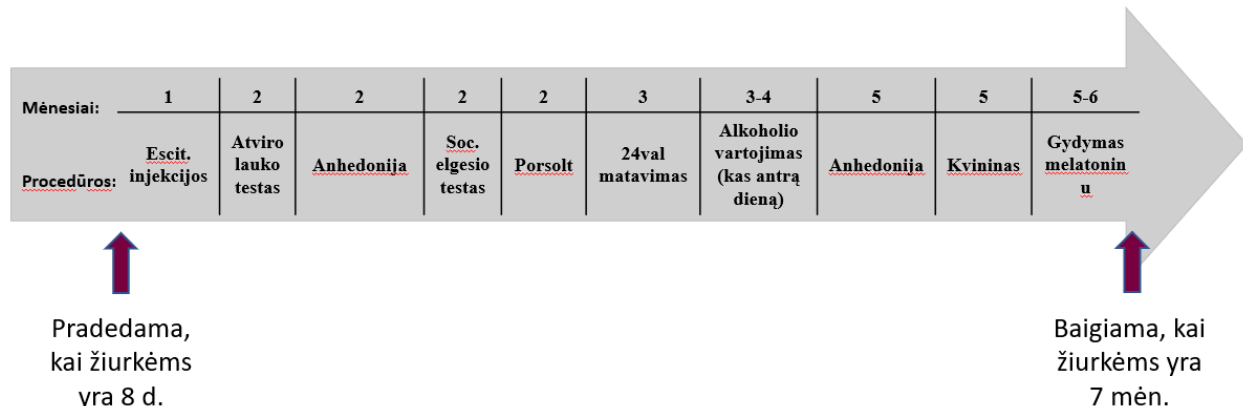
**Pirmasis tyrimas.** Tam kad nustatytume individualius elgesio skirtumus tarp žiurkių, šiam tyrimui naudojome sveikus 2-jų mėnesių amžiaus žiurkių patinus (n=26). Žiurkėms pirmiausiai buvo atliekami keletas elgsenos elgsenos testų: i) depresijos požymiai buvo įvertinti matuojant anhedoniją (duodamas pasirinkimas tarp sacharozės tirpalo ir vandens) ir nevilties lygį (atliekamas Porsolt plaukimo testas), ii) socialinė elgsena buvo įvertinama socialinių sąveikų skaičiumi su nepažįstamu jaunu tos pačios lyties partneriu, iii) lokomotorinis aktyvumas nepažįstamoje aplinkoje, noras tyrinėti tą aplinką ir baikštumas buvo įvertinti atviro lauko testu, iv) 24 val. lokomotorinis aktyvumas buvo registruojamas filmavimo kamera įtvirtinta virš GRS narvo ir pozicinė informacija bei nubėgtas atstumas automatiškai registruojami 24 valandų laikotarpyje Biobserve programine įranga. Po šių testų žiurkės gavo nuolatinį priėjimą prie 2 butelių GRS – vieno su alkoholiu ir kito su vandeniu. Po alkoholio buvo kartojamas anhedonijos testas bei daromas kvinino testas skonio jautrumo skirtumams nustatyti. Lamotrigino poveikio alkoholio gėrimui testavimas buvo atliktas tyrimo pabaigoje. Žiurkės, kurios gėrė alkoholio labai mažai (0-1 g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės) ir gėrimo įvykių skaičius buvo mažesnis nei penki buvo pašalinamos iš tyrimo, nes nereikšmingus kiekius alkoholio geriančioms žiurkėms medikamentinis gydymas, skirtas gėrimo mažinimui, neturėtų pamatuojamo efekto (žr. 4 pav.).



**4 pav.** Pirmojo tyrimo eiga ir testų pasiskirstymas laike

**Antrasis tyrimas.** Individualūs skirtumai tarp žiurkių gali būti per menki norint atrasti elgsenos sąsajas su alkoholio gėrimu, todėl mūsų antrajame tyrime buvo naudojamas žiurkių naujagimių depresijos modelis (žr. skyrelį 1.5.2. Gyvūnų modeliai). Šiame modelyje žiurkių jaunikliams (naudojome 41 patelę ir 40 patinus) vieną kartą per dieną (nuo 8-os ponatalinės dienos iki 21-os) buvo leidžiamas antidepresantas, serotonino transporterio inhibitorius, escitalopramas (10 mg/kg, IP, n=22 patelės ir n=20 patinai). Kontrolinei grupei (n=19 patelių ir n=20 patinų) vietoj escitalopramo buvo leidžiamas

fiziologinis skystis. Žiurkėms suaugus (2 mėn.), elgsenos pokyčiams įvertinti naudojome tuos pačius testus kaip ir pirmajame tyrime (žr. 5 pav.).



**5 pav.** Antrojo tyrimo eiga ir testų pasiskirstymas laike

Po elgsenos testų, vienam mėnesiui visoms žiurkėms buvo suteikta laisva prieiga prie vieno vandens ir vieno alkoholio butelio. Kad užtikrintume didesnę išgerto alkoholio kiekį, naudojome alkoholio gėrimo su pertraukomis modelį (žr. skyrelį 1.5.2.1.). Po savanoriško alkoholio vartojimo žiurkėms buvo pakartotas anhedonijos testas ir atliktas kvinino testas skonio kartumo jautrumui patikrinti. Kadangi šis žiurkių naujagimių depresijos modelis sukelia miego sutrikimus, melatoninas buvo pasirinktas tikintis didesnio poveikio gėrimui negu gydymas lamotriginu. Melatonino poveikio alkoholio gėrimui testavimas buvo atliktas tik su patiniais. Šiam testui jiems buvo suteikta nepertraukiama prieiga prie vandens ir 10 % alkoholio, o užregistravus stabilų gėrimą buvo pradėtas gydymas melatoninu (pav. 5). Žiurkės, kurios gėrė nereikšmingus alkoholio kiekius (0-1 g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės) buvo nenaudojamos melatonino testavime.

## 2.5. Elgsenos testavimas

**Anhedonijos testas.** Sacharozės testas (nuo angl. *Sucrose Preference test*) buvo daromas naudojant 0.2% sacharozės tirpalą (dėl šiek tiek skirtingo kiekvienos žiurkių linijos/ veisyklos/ kartos jautrumo skoniui, ši cukraus koncentracija buvo nustatyta pilotiniame eksperimente). Šio testo metu žiurkės buvo atskiriamos po vieną ir du buteliai, iš kurių vienas buvo su geriamuoju vandeniu, o kitas – su 0.2% sacharozė, tuo pačiu metu buvo dedami į gyvūnų narvus. Išgertas skysčių kiekis buvo matuojamas po 24 valandų. Pirmenybės teikimas sacharozės tirpalui apskaičiuotas pagal bendrą kiekvieno gyvūno skysčių suvartojimą ir sacharozės tirpalo suvartojimą. Sacharozės tirpalo pirmenybė = (sacharozės suvartojimas / bendras skysčių suvartojimas) × 100%. Lygi ar mažesnė pirmenybė sacharozės tirpalui negu 50% parodo, kad gyvūnas nesidomi sacharozės tirpalu (t.y., palyginus su kitomis

šios grupės žiurkėmis, išsiskiriantis didesniu anhedonijos lygiu). Kad žiurkei nebūtų nustatoma anhedonija, sacharozės tirpalui teikiama pirmenybė turėtų viršyti 60%.

**Porsolt testas.** Priverstinis plaukimo testas arba Porsolt testas (nuo angl. *Forced Swim test/ Porsolt test*) yra filmuojamas. Reikalaujama, kad žiurkės negalėtų sau palengvinti plaukimo su nagais ar uodegos rėmimusi į dugną. Todėl testas buvo atliekamas skaidraus „Plexiglas“ cilindre (vandens temperatūra 23-25 ° C; ir vandens gylis 30-35 cm). Kiekviena žiurkė buvo įdedama į vandenį ir testas truko 5 minutes ir buvo fiksuojamas keletas elgesio apraiškų: (1) plūduriavimo latencija – t.y., laikas iki pirmojo plūduriavimo (šis elgesys turi tęstis ilgiau nei 2 sekundes); (2) suminė nejudrumo-plūduriavimo trukmė, kai be kovos atliekami tik tie judesiai, kurie yra būtini norint išlaikyti galvą virš vandens ir nepaskęsti. Kuo žiurkė greičiau pasiduoda ir ima plūduriuoti bei kuo ilgiau plūduriuoja viso testo metu – tuo stipriau išreikštas bejėgiškumo ir pasidavimo elgesys.

**Socialinis elgesys.** Socialinio elgesio testas (nuo angl. *Social interaction test*) yra filmuojamas. Šis testas padeda stebėti natūralų žiurkių polinkį socialiai sąveikauti, todėl sąveikos nebuvimą galima laikyti socialiniu pasitraukimu, įvairių psichinių ligų požymiu. Šiame teste suaugusi žiurkė buvo pripratinama (5-10 minučių) prie atviro lauko dėžės, o kitą dieną ji buvo vėl dedama į jau pažįstamą dėžę, kurioje ji 1 minutę praleido viena, kad dar kartą ištirtų aplinką, o tada 5-ioms minutėms buvo įdedamas tos pačios lyties jauniklis (6-7 savaičių amžiaus), kuris suaugusiai žiurkei yra nepažįstamas ir socialinės sąveikos su jaunikliu matuojamos 5 minutes. Registruojami tokie atskiri įvykiai: 1) jaunos žiurkės laižymas; 2) savęs laižymas, priežiūra; 3) perlipimas per jaunąją žiurkę ar palindimas po ja; 4) anogenitalinis uostymas; 5) kūno uostymas (ne anogenitalinė zona); 6) socialinis pabėgimas ir sąveikos vengimas; 7) kontakto su jauna žiurke inicijavimas ir jos sekiojimas ir 8) bendras kontakto laikas. Šio testo metu jaunos žiurkės elgesys nėra stebimas ir registruojamas.

**Atviro lauko testas.** Atviro lauko testas (nuo angl. *Open Field test*) yra filmuojamas, o žiurkės, prieš šį testą nėra pratinamos prie atviro lauko dėžės. Šviesos intensyvumas atviro lauko dėžės centre buvo 47 liuksai, šonuose – 43-44 liuksai. Žiurkių elgesys ir aktyvumas buvo matuojamas 30 min, kurių metu registruoti: (1) gyvūno baikštumas – centro latencija, t.y., kada gyvūnas įeina į dėžės centrą, kiek iš viso laiko praleidžia centre, kiek kartų ir laiko praleidžia save švarinant (nuo angl. *grooming*) bei gyvūno išmatų skaičius testo pabaigoje; (2) lokomotorinis aktyvumas – nubėgtas atstumas ir (3) noras tirti naują aplinką – atsistojimai ant dviejų galinių kojų (nuo angl. *rearings*). Savęs laižymas ir priežiūra

buvo skaičiuojami ilgesni kaip 5s savęs švarinimosi veiksmai (Mishra, 2016). Nubėgtas atstumas ir centro laikas analizuojami *Biobserve* programa.

**24 val. aktyvumo matavimas.** Cirkadinis aktyvumas (nuo angl. *Circadian activity measurement*) yra filmuojamas. Žiurkės patalpinamos į GRS kad turėtų prieigą prie maisto ir vandens. Papildomai į dėžę įdedamas juodas dugnas ir naudojami tamsūs pakratai (Isola Vicentina, Italija) šlapimui sugerti, kad būtų kontrastas, būtinas duomenų analizei, tarp baltos žiurkės ir aplinkos. Prie aplinkos žiurkė pratinama 30-60 min. Šio aktyvumo matavimai padeda stebėti žiurkės paros ritmą bei lokomotorinį aktyvumą dienos ir nakties metu. Šis matavimas žiurkėms buvo atliktas prieš alkoholio vartojimą. Nubėgtas atstumas analizuojamas *Biobserve* programa.

## 2.6. Savanoriškas alkoholio vartojimas

Savanoriškas alkoholio gėrimas buvo matuojamas apytiksliai 1 mėnesį dviem metodais: 1) pirmame tyrime žiurkėms duota nuolatinė prieiga prie 2 butelių – vandens ir alkoholio; 2) antrame tyrime žiurkėms duota prieiga prie alkoholio kas antrą dieną – vieną dieną žiurkės turi tik vandens butelį, o kitą dieną vieną vandens ir antrą alkoholio butelį. Skysčio išsiliejimas ir išgaravimas buvo sumažintas naudojant specialius butelių dangtelius su nerūdijančio plieno vamzdelio galu, turinčiu mažą rutuliuką. Butelių padėtis buvo keičiama kas savaitę, kad būtų išvengta labiau mėgiamos narvelio vietos įtakos butelio pasirinkimui. Pripratinimui prie nemalonaus alkoholio skonio pirmą gėrimo savaitę alkoholio koncentracija buvo palaipsniui didinama: 5%-8-10%. Po pripratinimo, pirmojo tyrimo metu žiurkėms buvo suteikta nuolatinė prieiga prie vandens ir 10% alkoholio dviem mėnesiams, o antrojo tyrimo metu žiurkės 3 savaites gėrė 10% alkoholį ir vieną savaitę – 20 % alkoholį. Prieš testuojant medikamentinius preparatus, visos žiurkės gavo nuolatinę prieigą prie vandens ir 10% alkoholio GRS.

GRS įrangos pagalba skaičiavome detalų, su gėrimu susijusių, žiurkių elgesį: gėrimo įvykių skaičių, laižymų greitį (laižymai/min.), apytikslį vieno įvykio laižymų skaičių, apytikslę vieno gėrimo įvykio trukmę (s), intervalą tarp įvykių (min.). Geriamasis įvykis (nuo angl. *Bout*) buvo apibrėžiama kaip viena laižymų serija, sudaryta iš mažiausiai 20 lyžtelėjimų, kai lyžtelėjimus skiria ne daugiau kaip 60 sekundžių (Ford ir kt., 2002; Barkley-Levenson ir Crabbe, 2015). Geriamojo įvykio kintamieji buvo analizuojami naudojant vienos paros duomenis. Registravome ir skysčių suvartojimą GRS, sveriant butelius vieną kartą per 24 val.

## 2.7. Kvinino testas

Žiurkėms po alkoholio vartojimo buvo duodamas kvininas (nuo angl. *Quinine*). Kvininas žinomas kaip vaistas gydyti maliarijai, tačiau itin mažomis dozėmis naudojamas ir kartumo jautrumo skoniui nustatyti (Liu et al., 2020). Mūsų tyrime buvo duodamas 0.008 g/L ir 0.012 g/L kvininas ištirpdant jį vandenyje. Tokiu būdu buvo galima įsitikinti, kad žiurkės renkasi alkoholį sąmoningai, o ne dėl to, kad nejaučia skonio pokyčių tarp vandens ir alkoholio.

## 2.8. Medikamentinis gydymas

Siekiant ištirti medikamentų poveikį buvo siekiama, kad žiurkių vidutinis pradinis suvartojamo alkoholio kiekis būtų maždaug toks pat (t.y., vidutiniškai 2.3 g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną pirmame tyrime ir 3.1 g antrame tyrime. Prieš pradėdant medikamentinį gydymą stabilus gėrimas buvo stebimas mažiausiai 3 dienas (t.y., stengiamasi išvengti šuolių tarp skirtingų dienų gėrimo ypatumų).

Pirmojo tyrimo metu, praėjus paskutinei bazinio gėrimo matavimo dienai, kiekvienam gyvūnui (n=15) buvo suleistos trys kontrolinės, 5 mg/kg ir 10 mg/kg lamotrigino injekcijos (viena IP injekcija kas 24 val., maždaug 18 val.). Antrojo tyrimo metu (naudoti kontroliniai patiniai, n=9 ir escitalopramu gydyti patiniai, n=8), praėjus paskutinei bazinio gėrimo matavimo dienai, kiekvienam gyvūnui buvo suleistos trys kontrolinės arba 40 mg/kg melatonino injekcijos (viena IP injekcija kas 24 val., maždaug 18 val.). Medikamentiniam gydymui žiurkės buvo padalintos į mažesnes grupes, taip kad vienu metu apytiksliai tas pats žiurkių skaičius gautų arba skirtingą medikamento dozę, arba kontrolinį tirpalą. Po pirmojo gydymo bazinis alkoholio vartojimo lygis buvo atkuriamas (mažiausiai 5 dienas) ir žiurkėms buvo leidžiama kita medikamento dozė arba kontrolinis tirpalas.

Medikamentų injekcijų grafikas buvo pagrįstas (i) vaisto skilimo pusperiodžiu, (ii) ankstesniais tyrimais, naudojant tą patį gydymo planą (pvz., Vengeliene et al., 2007, 2015) (iii) sukeliama stresą gyvūnams - daugiau nei dvi injekcijos per dieną yra pernelyg įtemptos tokio pobūdžio eksperimentams ir sukelia nepageidaujamą stresą, o tai gali turėti įtakos alkoholio gėrimo ypatumams.

Bendras alkoholio suvartojimas (g / kg kūno svorio per parą) ir vandens suvartojimas (ml / kg kūno svorio per dieną) buvo matuojamas kasdien ~ 17 val. Kiekvienos žiurkės kūno svoris buvo registruojamas 24 valandas prieš pirmąją injekciją ir 12 valandų po paskutinės injekcijos, siekiant sekti kūno svorio pokyčius, kurie gali atsirasti dėl medikamentų šalutinio poveikio.

## 2.9 Duomenų statistinė analizė

Surinkus visus duomenis buvo atliekama atitinkama elgesio testų analizė bei kiti statistiniai skaičiavimai. Statistiniai skaičiavimai buvo atlikti SigmaPlot 14.5 kompiuterinėje programoje.

Pirsono koreliacija buvo atliekama norint išanalizuoti sąsają tarp išgerto alkoholio kiekio ir skirtingo elgsenos parametrų (cukraus tirpalui teikiamos preferencijos, elgesio pamatuoto Porsolt testo metu, socialinio elgesio, elgesio atviro lauko, 24 valandų lokomotorinio aktyvumo ir gėrimo stiliau pamatuoto GRS). Pirsono koreliacija taip pat buvo naudojama, kad nustatytume sąsajas tarp lamotrigino gydymo efektyvumo ir šių parametrų.

Stjudento t-testas, dviejų grupių palyginimui, buvo atliktas skirtumams tarp dviejų žiurkių grupių (kontrolinėms ir escitalopramu gydytoms) elgesio testuose: cukraus tirpalo preferencijoje, socialinio elgesio, atviro lauko ir Porsolt priverstinio plaukimo teste. Jei nebuvo patvirtintas normalusis pasiskirstymas, tada buvo daromas neparametrinis Mann-Whitney U testas.

Duomenys apie alkoholio ir vandens suvartojimą buvo analizuojami naudojant blokuotų duomenų dispersinę analizę su pakartotinais matavimais (angl. *2-way Repeated measures ANOVA*) (lyginami faktoriai: gydymo grupės (kontrolinė injekcija ir vaistas) bei dienos (bazinis gėrimas ir gėrimas gydymo metu)). GRS analizei buvo naudojamas 3 dienų vidutinis bazinis gėrimas ir 3 gydymo dienų vidurkis. Kai tik buvo nustatyta reikšmingų skirtumų, buvo atliktas post hoc Stjudento Newmano – Keulso (SNK) testas. Kai neradome sąveikos tarp faktorių, bet radome tarp grupių, tuomet darėme konservatyvesnę ir griežtesnę Tukey testą nei SNK, kad išvengtume I tipo klaidos (klaidingai teigiamo analizės rezultato). Pasirinktas reikšmingumo lygis buvo  $p < 0,05$ .

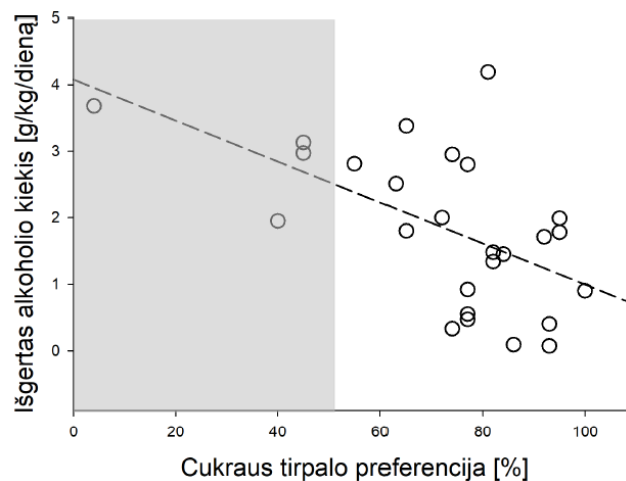
Visi duomenys išreiškiami vidutinės vertės  $\pm$  standartine vidurkio paklaida (angl. *Standard error of mean*).

### 3. REZULTATAI

Žemiau rezultatai bus pristatomi atitinkamai pagal vykdytus eksperimentus: (1) natūralios elgsenos charakteristikų įtaka alkoholio gėrimo ir lamotrigino gydymo efektui; (2) žiurkių naujagimių depresijos modelis ir atsiradusių elgsenos pokyčių charakterizacija; ir (3) farmakologiškai sukeltų elgsenos skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir reakcijai į gydymą melatoninu. Abiejuose tyrimuose, atlikus anhedonijos ir kvinino testus po alkoholio gėrimo, nebuvo rasta žiurkių, turinčių skonio jutimo anomalijų (šie rezultatai neparodyti).

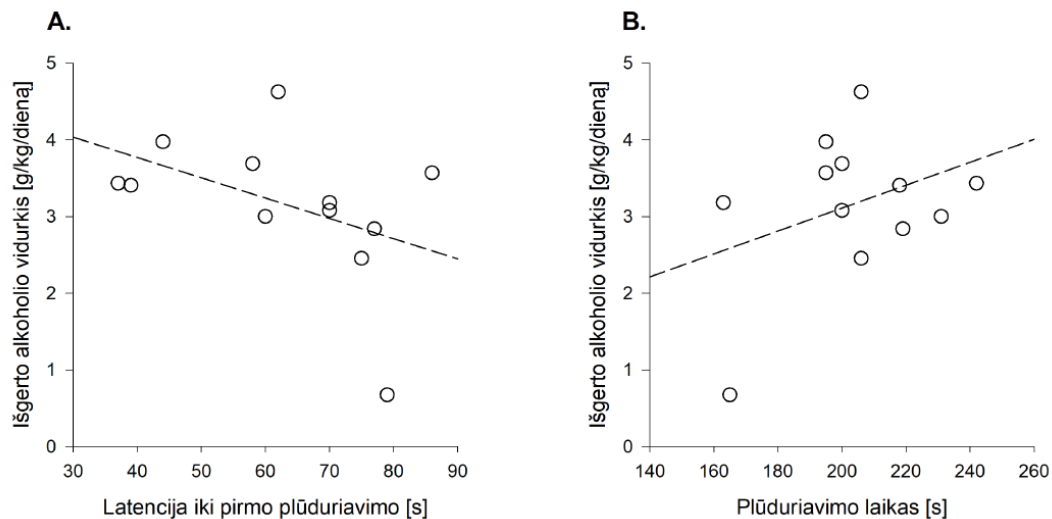
#### 3.1. Natūralios elgsenos charakteristikų įtaka savanoriškam alkoholio gėrimui

**Su depresija susijęs elgsys.** Žiurkių tyrimuose su depresija susijusį elgesį matuoja ne vienas testas, mūsų tyrime pasirinkome kelis – anhedonijos ir Porsolt testą. Pirsono koreliacija parodė statistiškai reikšmingą atvirkštinę koreliaciją tarp pirmenybės teikimo 0.2% sacharozės tirpalui, palyginti su vandeniu, ir vidutiniško savanoriškai išgerto alkoholio kiekio per pirmas dvi gėrimo savaites. Matome, kad kuo žiurkės teikė didesnę preferenciją cukraus tirpalui, tuo jos vartojo mažiau alkoholio [ $r=-0.56$ ;  $p<0.01$ ], todėl būtų galima apibendrinti, kad žiurkės su anhedonijos simptomais yra linkusios gerti daugiau alkoholio (pav. 6).



**6 pav.** Koreliacija tarp žiurkių pirmenybės teikimo cukraus tirpalui (preferencijos, %) ir vidutinio išgerto alkoholio kiekio, paskaičiuoto g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai) per visą bazinį savanoriško alkoholio gėrimo matavimų laikotarpį. Pilka spalva žymi anhedonijos ribą (<50%). Cukraus preferencijos testas buvo atliktas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Porsolt, arba priverstinio plaukimo teste, Pirsono koreliacija neparodė statistiškai reikšmingų korelacijų nei tarp latencijos iki pirmo žiurkės plūduriavimo cilindre ir išgerto alkoholio kiekio [ $p=0,15$ ] (pav. 7A), nei tarp viso plūduriavimo laiko testo metu ir išgerto alkoholio kiekio [ $p=0,25$ ] (pav. 7B). Tačiau matome tam tikrą tendenciją, kad greičiau pasiduodanti žiurkė (t.y. kuo greitesnis pirmas įvykstantis plūduriavimas nuo testo pradžios ir kuo ilgesnė plūduriavimo trukmė) gers daugiau alkoholio.

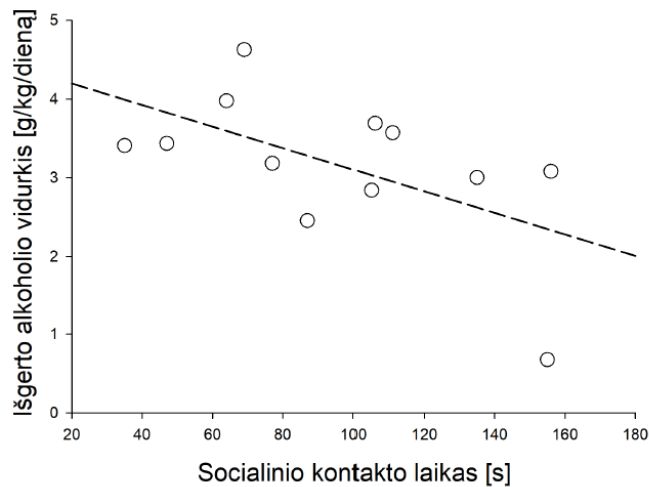


**7 pav.** Porsolt arba priverstinio plaukimo testas. Koreliacija tarp vidutinio išgerto alkoholio kiekio, paskaičiuoto g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai) per visą bazinį savanoriško alkoholio gėrimo matavimų laikotarpį ir **A.** žiurkių latencijos iki pirmo plūduriavimo (laikas, s) bei **B.** viso žiurkių plūduriavimo laiko (laikas, s). Porsolt testas buvo atliktas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Apibendrinant, galima teigti kad sveikų žiurkių grupėje, tos žiurkės, kurioms yra charakteringas stipriau išreikštas su depresija susijęs elgesys, yra linkusios gerti daugiau alkoholio.

**Socialinis elgesys.** Tarp suminio socialinio kontakto laiko (kai žiurkė uostinėja jaunesnę žiurkę) ir išgerto alkoholio kiekio statistiškai reikšminga koreliacija nerasta [Pirsono koreliacija,  $r=-0.56$ ,  $p=0,06$ ], tačiau stebima labai stipri tendencija ir atvirkštinė koreliacija, rodanti, kad kuo žiurkė mažiau socialiai kontaktuoja su kita žiurke, tuo ji geria daugiau alkoholio (pav. 8).

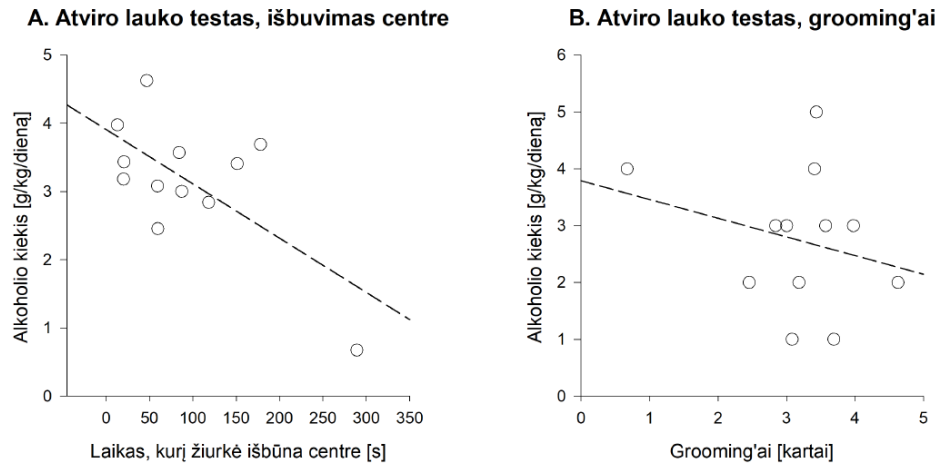




**8 pav.** Koreliacija tarp žiurkių socialinio kontakto laiko (laikas, s) ir vidutinio išgerto alkoholio kiekio, paskaičiuoto g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai) per visą bazinį savanoriško alkoholio gėrimo matavimų laikotarpį. Socialinio elgesio testas buvo atliktas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Deja, Pirono koreliacija neparodė statistiškai reikšmingos sąsajos su jokių kitu socialinio elgesio parametru (pvz., kontakto su jauna žiurke inicijavimų skaičius, jaunos žiurkės sekiojimų ir uostymų skaičius it kt., šie rezultatai neparodyti). Vis dėlto galime daryti išvadą, kad šis tyrimas atskleidė jog yra šokia tokia tikimybė, kad mažiau socializuotis nusiteikusios sveikos žiurkės bus linkusios gerti daugiau alkoholio.

**Baikštumas.** Baikštumas buvo matuojamas atviro lauko teste, kur buvo taip pat tiriamas žiurkės lokomotorinis aktyvumas ir noras tyrinėti naują aplinką. Pirono koreliacijos koeficientas buvo skaičiuojamas tarp vidutinio išgerto alkoholio kiekio per vieną dieną ir trijų žiurkės baikštumo lygį rodančių parametrų – centro laiko, prausimosi skaičiaus (grooming) ir išmatų skaičiaus. Statistiškai reikšminga koreliacija buvo rasta tarp alkoholio gėrimo ir laiko išbūto atviro lauko centre – t.y., žiurkės, kurios mažiau laiko praleido atviro lauko dėžės centre, gėrė daugiau alkoholio [ $r=-0,67$ ;  $p<0.05$ ] (pav. 9A). Tuo tarpu kitas aspektas – savęs prausimas ir intensyvi priežiūra, neatskleidė reikšmingos koreliacijos su vartojamu alkoholio kiekiu [ $p=0.41$ ] (pav. 9B) kaip ir centro latencija [ $p>0.05$ ] (rezultatai nerodomi).

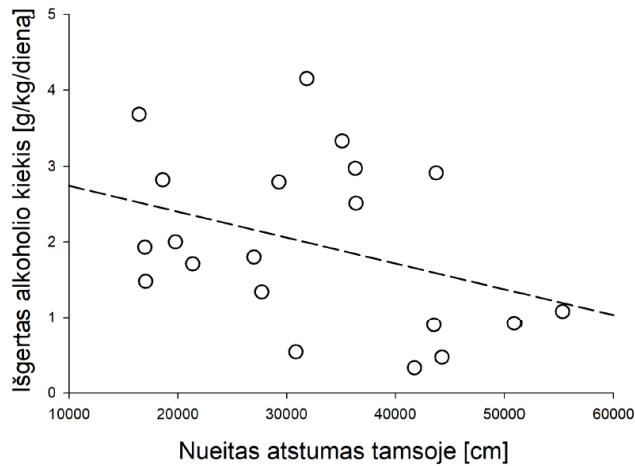


**9 pav.** Atviro lauko testas. Koreliacija tarp vidutinio išgerto alkoholio kiekio, paskaičiuoto g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai) per visą bazinį savanoriško alkoholio gėrimo matavimų laikotarpį ir **A.** laiko, kurį žiurkė išbūna centre (laikas, s) bei **B.** groomingų skaičiaus (kartai). Atviro lauko testas buvo atliktas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Atsižvelgiant į koreliacijos rezultatus, galima daryti išvadą, kad suteikus laisvą prieigą prie alkoholio ir vandens, tikimybė jog baikštesnės žiurkės suvartos daugiau alkoholio yra didesnė.

**Lokomotorinis aktyvumas ir noras tyrinėti nepažįstamą aplinką.** Noras tyrinėti naują aplinką skaičiuojant atsistojimų ant galinių letenų skaičių ir nueitas atstumas 30 min. bėgyje neparodė jokių statistiškai reikšmingų asociacijų su alkoholio gėrimu (rezultatai neparodyti).

Pirsono koreliacija atlikta naudojant 24 val. lokomotorinio aktyvumo matavimo pažįstamoje aplinkoje rezultatus taip pat neparodė statistiškai reikšmingos koreliacijos nei tarp nueito atstumo tamsoje [ $p=0,12$ ] (pav. 10), nei tarp nueito atstumo šviesoje [ $p=0,12$ ] (šie rezultatai neparodyti) ir vidutinio išgerto alkoholio kiekio. Tačiau stebima aiški tendencija, kad žiurkės, kurios bendrai mažiau domisi aplinka (remiantis bendru nueitu atstumu, yra mažiau aktyvios), linkusios gerti daugiau alkoholio.

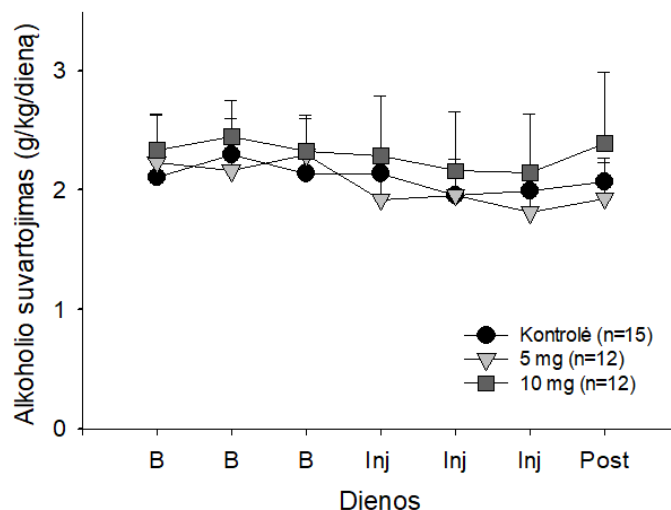


**10 pav.** Koreliacija tarp žiurkių nueito atstumo tamsoje (atstumas, cm) ir vidutinio išgerto alkoholio kiekio, paskaičiuoto g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai) per visą bazinį savanoriško alkoholio gėrimo matavimų laikotarpį. Lokomotorinis aktyvumas buvo matuojamas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Apibendrinant, šio tyrimo rezultatai parodė, įvairūs natūralios elgsenos bruožai, pamatuoti prieš suteikiant žiurkėms laisvą prieigą prie alkoholio, įtakoja savanoriškai alkoholio gėrimą. Didesnis su depresija susijęs elgesys ir didesnis baikštumas statistiškai patikimai asocijavosi su didesniais išgerto alkoholio kiekiais. Taip pat buvo atrasta tendencija tarp didesnio gėrimo ir mažesnio žiurkių lokomotorinio aktyvumas bei nesidomėjimo socialiniu bendravimu.

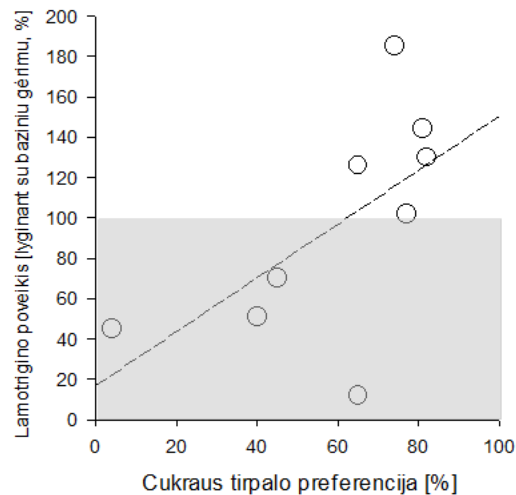
### 3.2. Natūralios elgsenos charakteristikų įtaka lamotrigino gydymo efektyvumui

Visų žiurkių, gydytų kontroliniu tirpalu ir lamotriginu, blokuotų duomenų dispersinė analizė su pakartotiniais matavimais (angl. *2-way ANOVA with repeated measurements*) parodė, kad gydymas lamotriginu neturėjo statistiškai reikšmingų skirtumų [lyginama faktorių sąveika×dienos,  $p=0.17$ ] (pav. 11). Tolimesnė analizė parodė, kad lamotriginas visgi sumažino suvartoto alkoholio kiekį, bet tik kai kuriose žiurkėse.



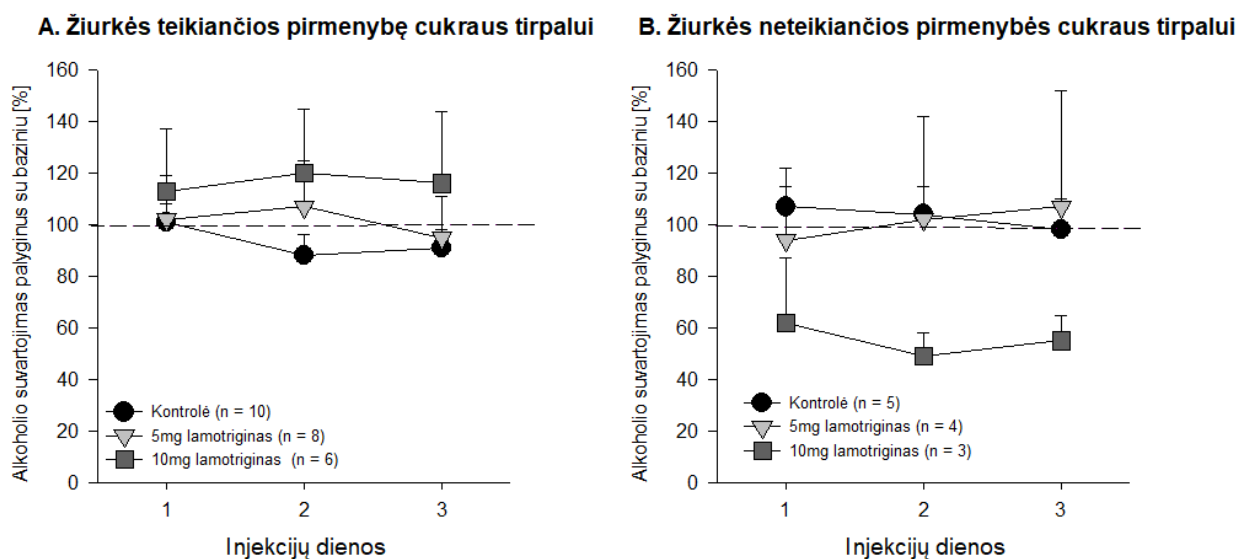
**11 pav.** Išgertas alkoholio kiekis (t.y., gryno etanolio kiekis, g, tenkantis 1 kg kūno masės per dieną, g/kg/dienai) prieš, per ir po gydymo arba kontroliu tirpalu (10% PEG), arba 5mg/kg lamotrigine, arba 10 mg/kg lamotrigino. Grafike: B – bazinis gėrimas; Inj – injekcijos dienos (vieną kartą per dieną, prieš tamsą); Post – pirmą dieną po gydymo. Tikslus žiurkių skaičius, kuris dalyvavo medikamentiniame gydyme yra nurodytas paveikslėlyje. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

**Gydymo efektyvumo koreliacija su žiurkių elgesiu.** Žvelgiant į žiurkes, kurios buvo gydomos lamotriginu, bei šio gydymo efektyvumą, yra stebimos tik tendencijos. Atlikus Pirsono koreliaciją, vienintelė akivaizdi tendencija buvo rasta tarp gydymo lamotriginu efektyvumo ir pirmenybės teikimo cukraus tirpalui (pav. 12). Stebima ryški tendencija, kad toms žiurkėms, kurios neteikia pirmenybės cukraus tirpalui, lamotrigino gydymo efektas buvo mažesnis [ $r=0.62$ ;  $p=0.07$ ]. Įdomu tai, kad žiurkėms, kurios neturėjo anhedonijos, lamotriginas alkoholio išgėrimą net padidino. Tai tik dar kartą parodo kaip svarbu diferencijuoti tarp žiurkių ir, žinoma, žmogaus charakteristikų, nes vaistas gali sukelti atvirkštinį poveikį, negu tas, kurio tikimasi.



**12 pav.** Koreliacija tarp žiurkių pirmenybės teikimo cukraus tirpalui (preferencijos, %) ir lamotrigino poveikio, lyginant su žiurkių baziniu alkoholio gėrimu prieš gydymą (poveikis, %). Pilka spalva žymi vaisto poveikį (viskas kas žemiau <100%, rodo keliais procentais nukrito alkoholio gėrimas palyginus su baziniu). Cukraus preferencijos testas buvo atliktas prieš suteiktą laisvą alkoholio prieigą.

Farmakologinę lamotrigino gydymo tendenciją aiškiau galime išvysti, jei žiurkes išskirstome į dvi grupes: tos kurios teikia pirmenybę cukraus tirpalui [Blokotų duomenų dispersinė analizė su pakartotinais matavimais; lyginamas faktorius – gydymas:  $p = 0.74$ ] ir kurios neteikia [Blokotų duomenų dispersinė analizė su pakartotinais matavimais; lyginamas faktorius – gydymas:  $p = 0.28$ ]. Nors neradome statistiškai reikšmingo skirtumo (taip galėjo nutikti dėl per mažo žiurkių skaičiaus šiame eksperimente), bet matome tendenciją, kad lamotrigino efektyvumas yra mažesnis toms žiurkėms, kurios teikia pirmenybę cukraus tirpalui ir neturi anhedonijos arba su depresija susijusio elgesio (pav. 13A). Tuo tarpu žiurkės, kurios turi anhedoniją arba į depresiją panašų elgesį, į lamotriginą (10 mg/kg) reaguoja stipriau, vaistas suveikia tokioms žiurkėms efektyviau ir tai sumažina jų išgeriamą alkoholio kiekį (pav. 13B).

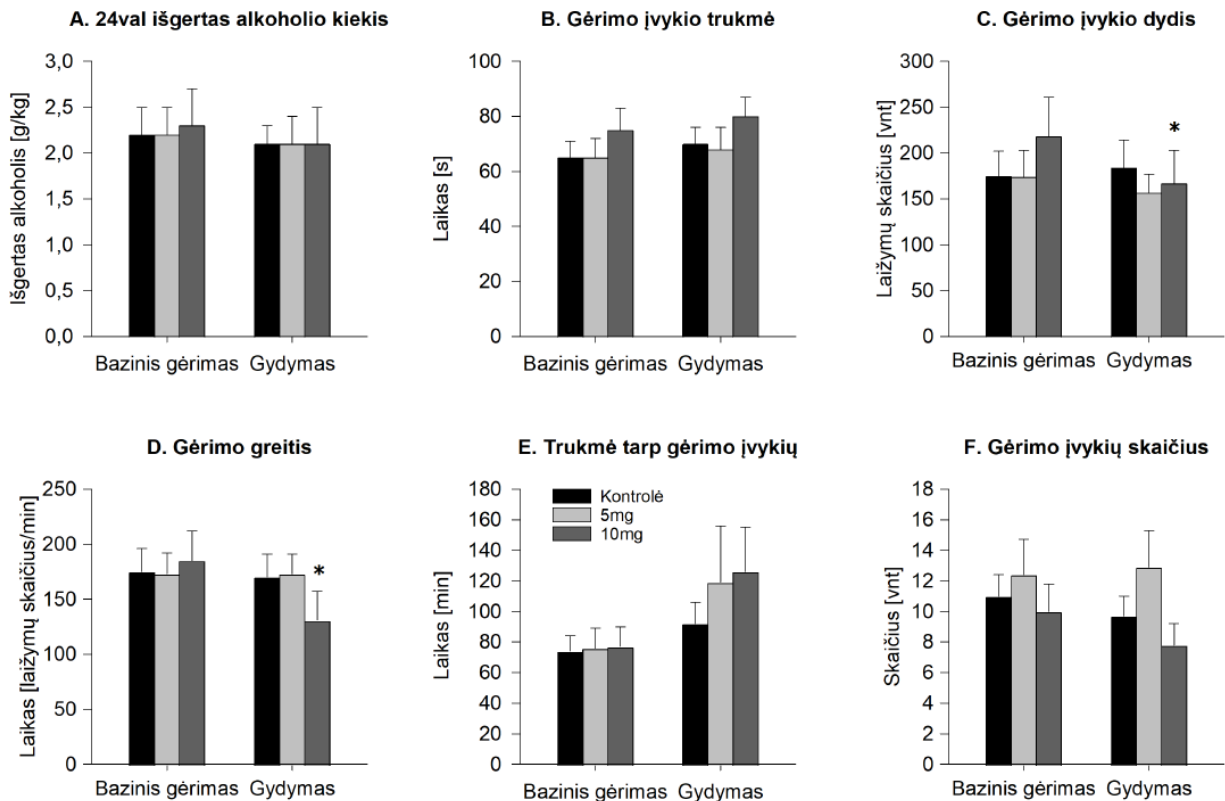


**13 pav.** Farmakologinis gydymas neturinčioms (A) ir turinčioms anhedoniją (B) žiurkėms. Punktyrinė linija nuo 100% ir žemiau rodo vaisto efektyvumą. Žiurkės buvo suskirstytos pagal ankstesnę cukraus preferencijos testą, kurio metu <50% cukraus tirpalo preferencija rodo anhedonijos ribą. Tikslus žiurkių skaičius, kurios gavo lamotrigino (5 g/kg; 10 mg/kg) ir kontrolinių injekcijų, nurodytas paveikslėliuose. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

Lamotriginas yra naudojamas gydyti depresiją ir bipolinį sutrikimą žmonėms, taigi, galime daryti išvadą, kad šis vaistas efektyviau mažina alkoholio gėrimą ir žiurkėms turinčioms stipriau išreikštą su depresija susijusį elgesį. Kitos elgesio charakteristikos neturėjo įtakos gydymo lamotriginu efektyvumui (šie rezultatai neparyti).

**Gėrimo stiliaus įtaka gydymui lamotriginu.** GRS duomenų analizė buvo atlikta naudojant vidutinius 3 dienų matavimus prieš pat gydymą lamotriginu ir matavimus 3 gydymo dienų metu. Blokuotų duomenų dispersinė analizė su pakartotinais matavimais parodė, kad nebuvo statistiškai reikšmingo skirtumo tarp suvartoto 3 dienų alkoholio bazinio gėrimo ir 3 gydymo dienų [lyginama faktorių sąveika $\times$ dienos:  $p=0.87$ ] (pav. 14A). Taip pat nebuvo rasta statistiškai reikšmingos gydymo lamotriginu įtakos vidutinei gėrimo įvykio trukmei [ $p=0.49$ ] (pav. 14B). Alkoholio gėrimo įvykio dydžio analizė, matuojama lyžtelėjimų skaičiumi, parodė, kad 10 mg/kg lamotrigino gydymo metu mažėja įvykio dydis, palyginti su bazine serija [lyginama faktorių sąveika $\times$ dienos:  $F(2, 41)=4.49$ ,  $p<0.05$ ] (pav. 14C). Žiurkės alkoholio lyžtelėjimų greitis gydant 10 mg/kg lamotriginu tapo mažesnis nei baziniu gėrimo metu, matuotu prieš gydymą [lyginama faktorių sąveika $\times$ dienos:  $F(2,41)=6.35$ ,  $p<0.05$ ] (pav. 14D). Bazinio ir gydymo metu pamatuotas gydymo laiko intervalas tarp alkoholio gėrimo įvykių

patikimai nesiskyrė [lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.72$ ] (pav. 14E). Gėrimo įvykių skaičiaus analizė rodo tendenciją, kad 10 mg/kg lamotrigino gydymas sumažino alkoholio gėrimo įvykius [lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.69$ ] (pav. 14F).

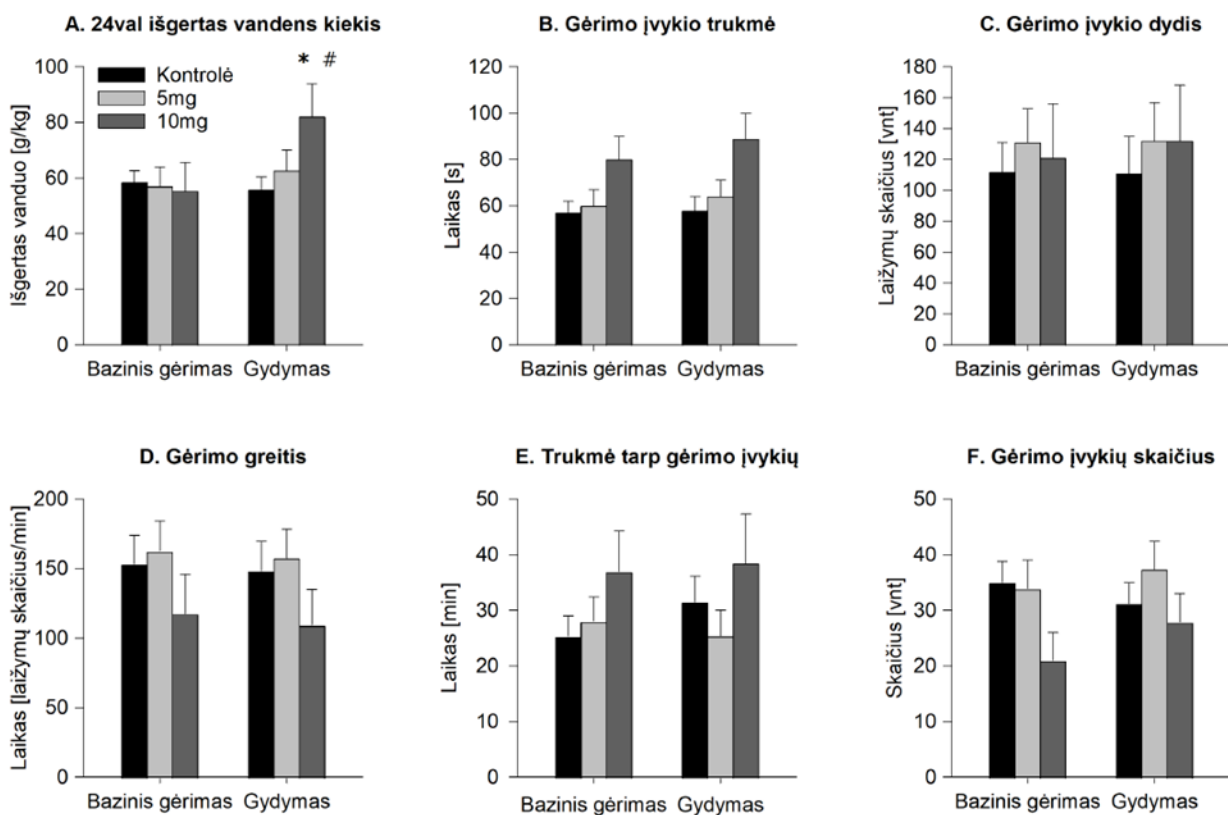


14

**pav.** GRS registruota alkoholio gėrimo analizė prieš ir per gydymą lamotriginu. Duomenys pateikti 3 dienų vidutinėmis reikšmėmis (t.y., trys bazinės ir trys gydymo dienos). **A.** Per 24 val. išgertas alkoholio vidutinis kiekis, paskaičiuotas g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai). **B.** Gėrimo įvykio vidutinė trukmė, t.y. kiek laiko užtruko vienas alkoholio gėrimas. **C.** Gėrimo įvykio dydis, t.y. koks buvo vidutinis laižymų skaičius kiekvieno alkoholio gėrimo metu. **D.** Gėrimo greitis, t.y. vidutinis alkoholio laižymų skaičius, kuris apskaičiuojamas per 1 min. **E.** Trukmė tarp gėrimo įvykių, t.y. vidutinė trukmė, kuri rodo, kiek laiko buvo praėję nuo vieno gėrimo įvykio iki sekancio. **F.** Gėrimo įvykių skaičius, t.y. vidutinis skaičius, kuris rodo, kiek gėrimo įvykių išvis įvyko. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis ± S.E.M. \* Nurodo reikšmingus skirtumus tarp gydymo 10 mg/kg lamotriginu ir jo bazinio gėrimo prieš gydymą,  $p<0.05$ .

Blokuotų duomenų dispersinė analizė su pakartotiniais matavimais parodė, kad vandens gėrimas statistiškai reikšmingai pasikeitė 10 mg/kg lamotrigino gydymo metu palyginus su baziniu vandens

gėrimu [lyginama faktorių sąveika×dienos:  $F(2, 41)=5.0, p<0.05$ ] (pav. 15A). Išgerto vandens kiekio padidėjimas rodo, kad gyvūnui alkoholis nebeatinka, o tam kad palaikytų pastovų bendrą suvartotų skysčių kiekį, gyvūnas renkasi gerti daugiau vandens. Gėrimo įvykio trukmės analizė neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų lyginant dienas prieš gydymą su gydymo lamotriginu dienomis [[lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.83$ ] (pav. 15B). Vandens gėrimo įvykio dydžio analizė, matuojant lyžtelėjimų skaičių, neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų [lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.99$ ] (pav. 15C). Vandens lyžtelėjimų greitis netapo reikšmingai skirtingas gydymo metu [[lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.74$ ] (pav. 15D). Laiko intervalas tarp vandens gėrimo įvykių netapo reikšmingai ilgesnis gydymo metu [[lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.44$ ] (pav. 15E). Verta paminėti, kad intervalai tarp vandens lyžtelėjimų serijų dažniausiai buvo labai trumpi, vandens gėrimas dažnai vyko klasteriais tamsiuoju šviesos ciklo metu, o alkoholio gėrimas buvo daugiau išplitęs visu paros metu. Gėrimo įvykių skaičius rodo tik tendenciją, kad 10 mg/kg lamotrigino gydymo pasekoje daugėjo vandens gėrimo įvykių [[lyginama faktorių sąveika×dienos:  $p=0.11$ ] (pav. 15F).

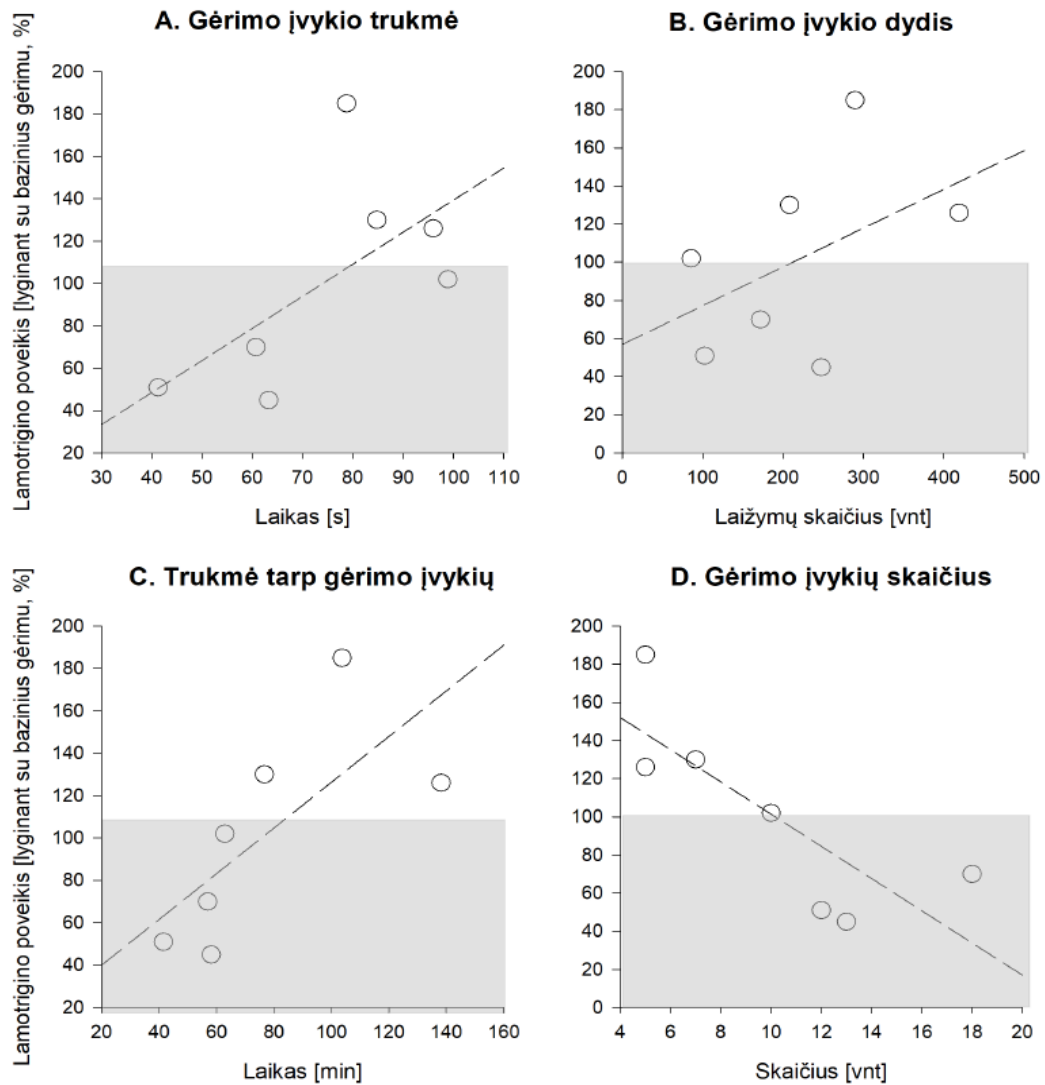


**15 pav.** GRS registruota vandens gėrimo analizė prieš ir per gydymą lamotriginu. Duomenys pateikti 3 dienų vidutinėmis reikšmėmis (t.y., trys bazinės ir trys gydymo dienos). **A.** Per 24 val. išgertas vandens vidutinis kiekis, paskaičiuotas g gryno vandens tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai). **B.** Gėrimo įvykio vidutinė trukmė, t.y. kiek laiko užtruko vienas vandens gėrimas. **C.** Gėrimo įvykio dydis,



t.y. koks buvo vidutinis laižymų skaičius kiekvieno vandens gėrimo metu. **D.** Gėrimo greitis, t.y. vidutinis vandens laižymų skaičius, kuris apskaičiuojamas per 1 min. **E.** Trukmė tarp gėrimo įvykių, t.y. vidutinė trukmė, kuri rodo, kiek laiko buvo praėję nuo vieno gėrimo įvykio iki sekančio. **F.** Gėrimo įvykių skaičius, t.y. vidutinis skaičius, kuris rodo, kiek gėrimo įvykių išvis įvyko. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M. \* Nurodo statistiškai reikšmingus skirtumus tarp gydymo 10 mg/kg lamotriginu ir jo bazinio gėrimo prieš gydymą,  $p < 0.05$ ; # Nurodo statistiškai patikimą skirtumą nuo kontrolinės grupės lamotrigino gydymo metu.

Pirsono koreliacija parodė tendenciją, kad 10 mg/kg lamotrigino efektyvumui didžiausią įtaką daro gėrimo įvykio trukmė (pav. 16A-B), t.y., kuo trumpesnis įvykis, tuo lamotrigino efektyvumas didesnis ( $r=0.63$ ,  $p=0.13$  ir  $r=0.47$ ,  $p=0.29$  atitinkamai gėrimo įvykio trukmei ir gėrimo įvykio dydžiui). Taip pat įtakos turėjo trukmė tarp gėrimo įvykių, t.y., kuo trumpesnis intervalas, tuo lamotrigino efektyvumas didesnis ( $r=0.72$ ,  $p=0.07$ ) (pav. 16C) ir gėrimo įvykių skaičius ( $r=-0.83$ ,  $p=0.03$ ) (pav. 16D). Tai rodo, kad lamotriginas yra efektyviausias žiurkėms, kurios geria dažnai ir mažais kiekiais.

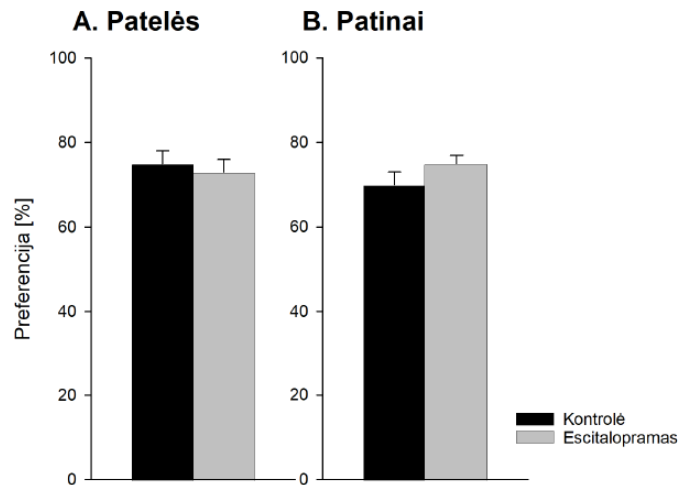


**16 pav.** Koreliacija tarp lamotrigino poveikio ir **(A)** gėrimo įvykio trukmės, **(B)** gėrimo įvykio dydžio, **(C)** trukmės tarp gėrimų įvykių, **(D)** gėrimo įvykių skaičiaus. Pilka spalva žymi vaisto poveikį (viskas kas žemiau <100%, rodo keliais procentais nukrito alkoholio gėrimas palyginus su baziniu). Sumoje, GRS rezultatų analizė parodė, kad nors ir bendras visų žiurkių išgertas alkoholio kiekis nesumažėjo, lamotriginas reikšmingai padidino vandens gėrimą ir sumažino alkoholio įvykių dydį bei alkoholio gėrimo greitį. Tai parodo lamotrigino įkatą skirtingoms gėrimo charakteristikoms.

### 3.3. Žiurkių naujagimių depresijos modelis ir atsiradusių elgsenos pokyčių charakterizacija

Gydymas escitalopramu reikšmingai sumažino žiurkių svorį. Šis efektas išsilaiškė visą eksperimentinį laikotarpį patelėms [F(1, 227)=25.2, p<0.001] ir pirmus 3 gyvenimo mėnesius patinams [F(1, 238)=62.1, p<0.05] (šie rezultatai nerodomi).

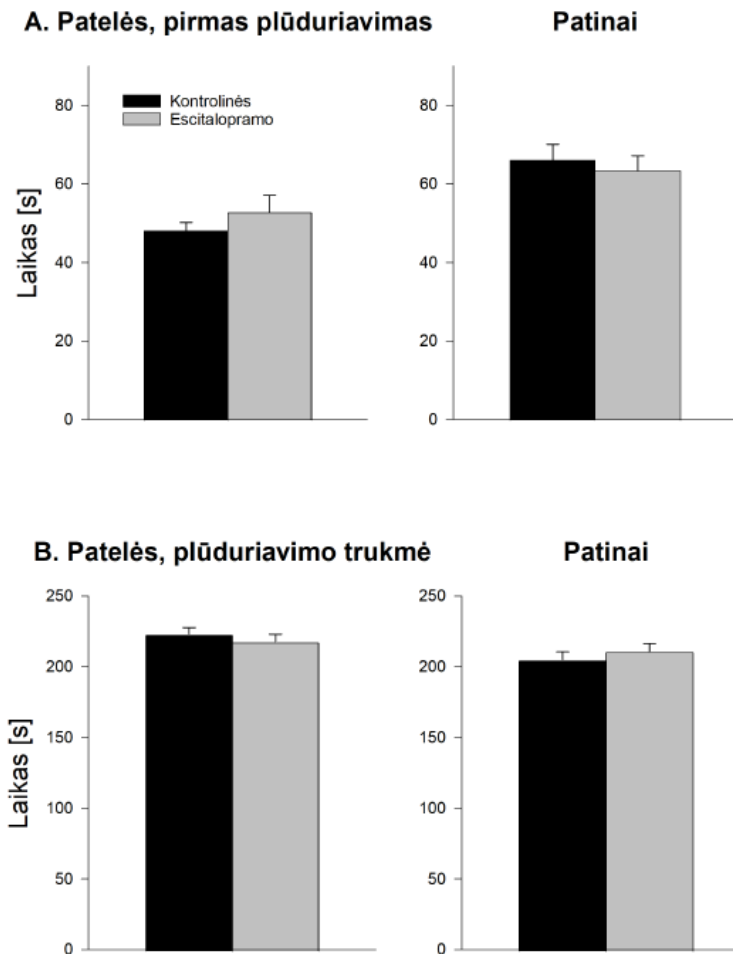
**Su depresija susijęs elgesys.** Analizuojant skirtumus tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų žiurkių grupių, Stjudento t-testas neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų teikiamai cukraus tirpalo pirmenybei nei patinams [ $p=0.15$ ], nei patelėms [ $p=0.61$ ] (pav. 17).



**17 pav.** Cukraus tirpalo testas (<50% cukraus tirpalo preferencija rodo anhedonijos ribą). **A.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių preferencija cukraus tirpalui. **B.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patinų preferencija cukraus tirpalui. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

Porsolt teste buvo skaičiuojamas pirmas žiurkės plūduriavimas vandenyje nuo testo pradžios ir bendras plūduriavimo laikas per visą testo atlikimą (pav. 18A). Deja, Stjudento t-testas neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų nei tarp patinų kontrolinės ir escitalopramu gydytos grupių [ $p=0.63$ ], nei tarp patelių grupių [ $p=0.39$ ]. Tačiau buvo stebima, kad patelės daug greičiau nei patinai pradėdavo plūduriuoti, kas rodytų jų didesnę polinkį nekovoti už išgyvenimą – pvz., kontroliniai patinai vidutiniškai pradėdavo plūduriuoti po  $66.1 \pm 4.0$  s nuo testo pradžios, o kontrolinės patelės vidutiniškai imdavo plūduriuoti po  $48.2 \pm 2.0$  s (pav. 19A).

Statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo rasta ir bendroje plūduriavimo trukmėje. Kontroliniai patinai vidutiniškai plūduriuodavo  $205.1 \pm 5.4$  s, o escitalopraminiai patinai  $210.9 \pm 5.5$  s [ $p=0.46$ ]. Tuo tarpu kontrolinės patelės vidutiniškai plūduriavo  $223.1 \pm 4.5$  s, o escitalopraminės  $217.8 \pm 5.2$  s [ $p=0.62$ ] (pav. 18B).

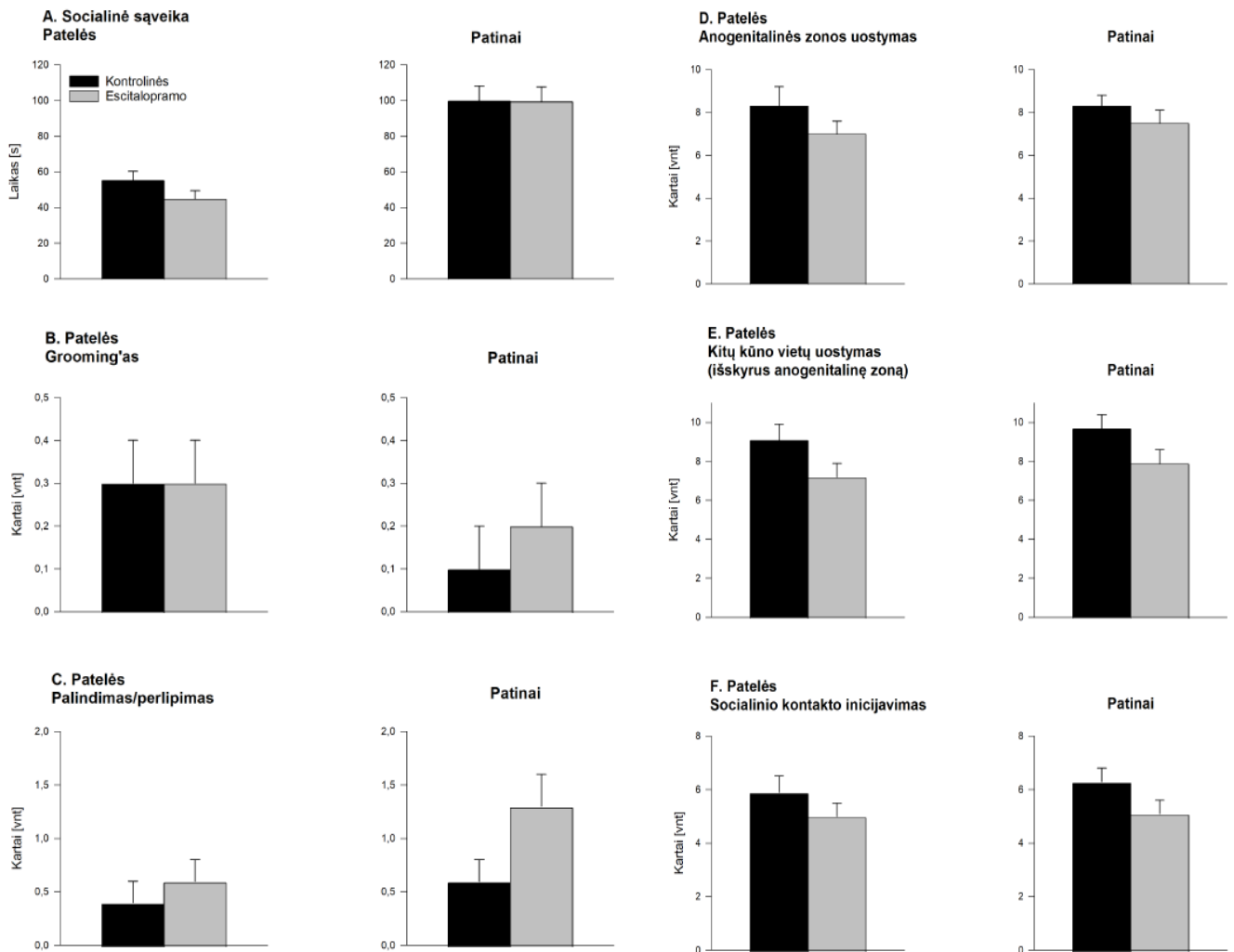


**18 pav.** Porsolt testas. **A.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių (kairėje) bei patinų (dešinėje) pirmas plūduriavimas testo metu (laikas, s). **B.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) visa plūduriavimo trukmė (laikas, s). Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

Taigi, su depresija susijusio elgesio analizė pademonstravo, kad šiame tyrime nei escitalopramu gydytiems patinams, nei patelėms depresijos požymių nebuvo rasta.

**Socialinis elgesys.** Socialinio elgesio testo analizė taip pat neparodė nei vieno statistiškai reikšmingo rezultato tarp kontrolinės ir escitalopramo grupės (pav. 19A-F), tačiau stebėjome gana ryškia tendenciją sumažėjusio socialinio kontakto ieškojimo tiek patelėms, tiek patinams. Bendras kontakto su socialiniu partneriu laikas buvo šiek tiek mažesnis patelių escitalopramo gydytomis žiurkėms [ $p=0.14$ ] ir nesiskyrė tarp patinų grupių [ $p=0.98$ ] (pav. 19A). Matome ir akivaizdžius lyčių skirtumus – tiek kontrolinės ( $55.2 \pm 5.1$  s), tiek escitalopramu gydytų žiurkių ( $44.9 \pm 4.6$  s) patelės yra linkusios

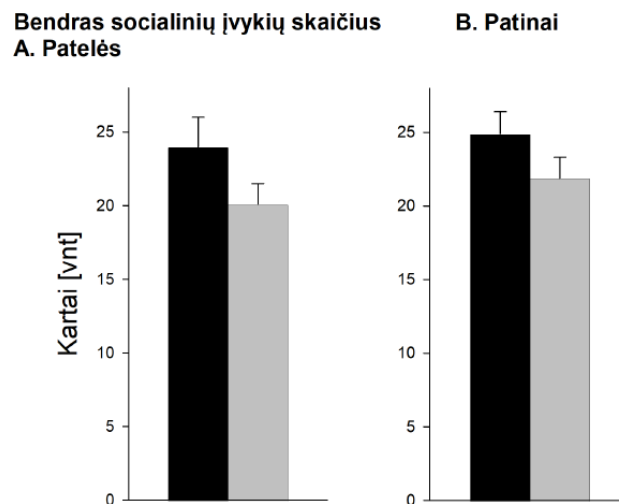
socializuotis kur kas trumpiau nei kontroliniai ( $99.7 \pm 8.5$  s) ar escitalopramu gydyti patinai ( $99.4 \pm 8.2$  s) (pav. 19A). Taip pat, patelės buvo likusios kiek daugiau rūpintis jaunesne žiurke nei patinai (pav. 19B). Pagrindiniai socialinio elgesio matavimai – t.y., anogenitalinio uostymo įvykių skaičius, likusio kūno uostymo skaičius ir kontakto su jauna žiurke inicijavimo ir jos sekiojimo skaičius – buvo sumažėję escitalopramu gydytose žiurkėse [anogenitalinio uostymo įvykių skaičius:  $p=0.19$  patelėms ir  $p=0.30$  patinams (pav. 19D), likusio kūno uostymų skaičius:  $p=0.07$  patelėms ir  $p=0.07$  patinams (pav. 19E) ir kontakto su jauna žiurke inicijavimas ir jos sekiojimo skaičius:  $p=0.28$  patelėms ir  $p=0.11$  patinams (pav. 19F)].



**19 pav.** Socialinio elgesio testo rezultatai. **A.** Patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai jaunos, nepažįstamos žiurkės laižyme (groominge); **B.** Patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai savęs laižyme, priežiūroje (groominge); **C.** Patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai perlipimo per jauną žiurkę ar palindimo po ja; **D.** Patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai anogenitaliniame uostyme; **E.** Patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai kūno uostyme (ne anogenitalinė zona); **F.** Patelių

(kairėje) ir patinų (dešinėje) skirtumai kontakto su jauna žiurke inicijavime ir jos sekiojime. Šio testo metu jaunos, nepažįstamos žiurkės elgesys nėra stebimas ir registruojamas. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

Bendras socialinių įvykių skaičius (t.y., suminis anogenitalinės ir kitų kūno vietų uostymų bei socialinių kontaktų inicijavimų skaičius) nors ir neparodė statistiškai reikšmingo skirtumo tarp kontrolinių (24 $\pm$ 2) ir escitalopraminių patelių (20.1 $\pm$ 1.4) [ $p=0.11$ ] ir tarp kontrolinės (24.9 $\pm$ 1.5) bei escitalopramu gydytos (21.9 $\pm$ 1.4) žiurkių patinų grupės [ $p=0.14$ ], bet atskleidė labai aiškia, escitalopramo gydymo sukeltą, tendenciją mažesnio susidomėjimos socialiniu partneriu (pav. 20).



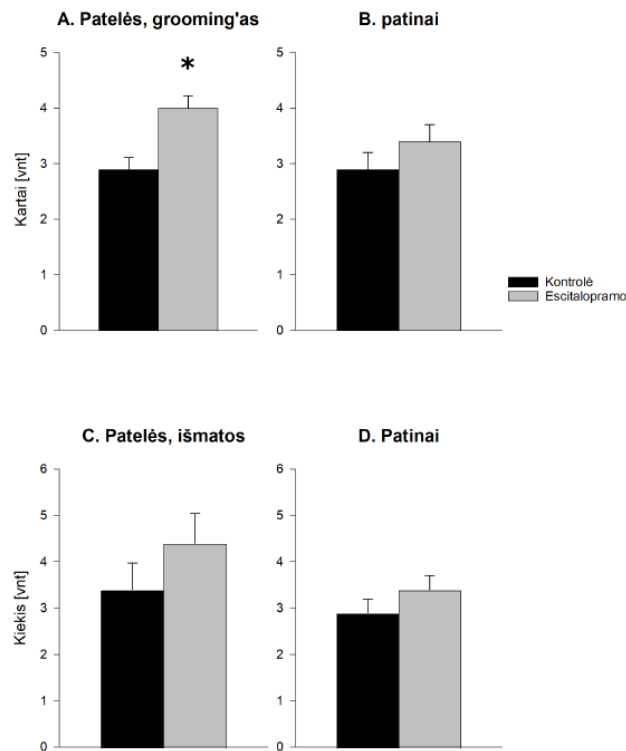
**20 pav.** Bendras socialinių įvykių skaičius kontrolinėse ir escitalopramu gydytų patelių (A) ir patinų (B) grupėse. Šio testo metu jaunos, nepažįstamos žiurkės elgesys nėra stebimas ir registruojamas. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M.

Elgesyje susijusiame su nerimu, pavyzdžiui, savęs prausimas (groomingas) [ $p=0.23$  patelėms ir  $p=0.21$  patinams] ir socialinis vengimas ir pabėgimas nuo kontakto [ $p=0.50$  patelėms ir  $p=0.15$  patinams] reikšmingai nesiskyrė (šie rezultatai neparodyti).

Taigi, susumavus matome, kad socialinis elgesys nors ir patikimai nesiskiria tarp grupių, bet gydymas escitalopramu šiek tiek sumažino norą bendrauti su nepažįstamu tos pačios lyties socialiniu partneriu.

**Baikštumas.** Atviro lauko teste pamatuoto baikštumo požymių analizė parodė statistiškai reikšmingą skirtumą tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių. Savęs prausimas (groomingas) buvo retesnis kontrolinėse patelėse [Mann-Whitney testas,  $U=97.500$ ,  $p<0.01$ ], o tai parodo, kad

escitalopramu gydytos patelės buvo reikšmingai baikštesnės testo metu (pav. 21A). Patelių escitalopramu gydytoje grupėje radome tendenciją daugiau tuštintis naujoje aplinkoje [ $p=0.24$ ] (pav. 21C). Jokių skirtumų nebuvo tarp patinų grupių (pav. 21). Centro latencija ir ten praleistas laikas patikimai nesiskyrė nei tarp patelių, nei tarp patinų grupių (šie rezultatai neparodyti).



**21 pav.** Atviro lauko testo rezultatai kontrolinėse ir escitalopraminėse patelių (kairėje) ir patinų (dešinėje) grupėse. Laižymosi, groomingo skirtumai tarp kontrolinės ir escitalopramu gydytos (A) patelių, (B) Patinų grupės. Išmatų skaičius pasibaigus atviro lauko testui kontrolinėje ir escitalopramu gydytoje (C) patelių, (D) patinų grupėje. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M. \*Nurodo reikšmingus skirtumus tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų grupės patelių,  $p < 0.05$ .

Bendrai galime daryti išvadą, kad gydymas escitalopramu padidino patelių baikštumą, bet nepaveikė patinėlių su baikštumu susijusio elgesio.

**Lokomotorinis aktyvumas ir noras tyrinėti nepažįstamą aplinką.** Bendras nueitas atstumas atviro lauko testo metu nesiskyrė tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų žiurkių grupių [ $p=0.37$  patelėms ir  $p=0.99$  patinams] (šie rezultatai neparodyti). Vertinant žiurkių atsistojimą ant galinių kojų

reikšmingų skirtumų kontrolinių ir escitalopramo grupių taip pat neradome [ $p=0.50$  patelėms ir  $p=0.96$  patinams] (šie rezultatai neparodyti).

24 val. nueitas atstumas nesiskyrė nei tarp patelių grupių, nei tarp patinų grupių [tamsos atstumas:  $p=0.51$  patelėms ir  $p=0.55$  patinams ir šviesos atstumas:  $p=0.73$  patelėms ir  $p=0.34$ ] patinams (šie rezultatai neparodyti).

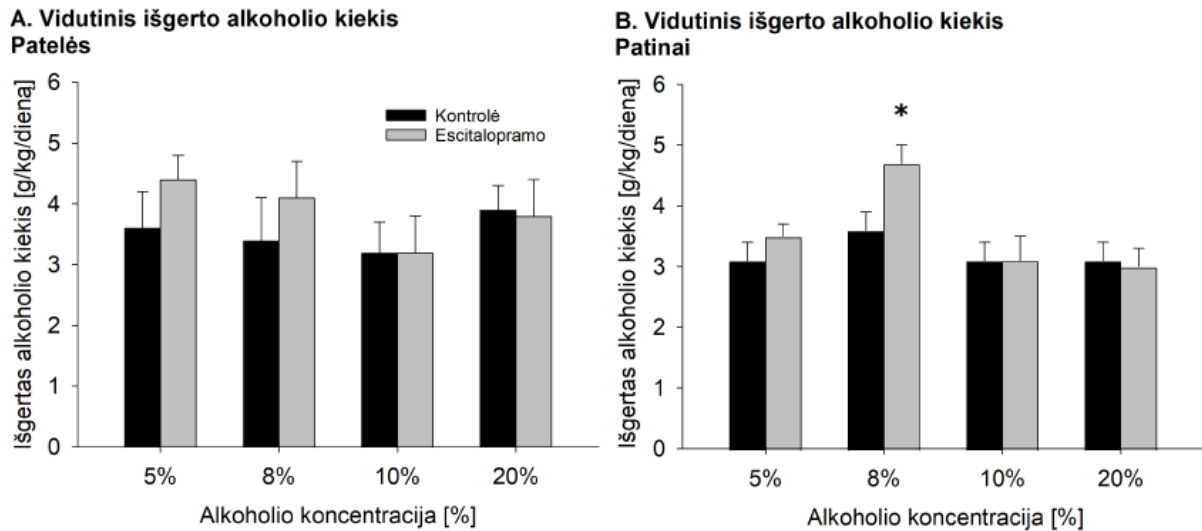
Šie rezultatai parodo, kad gydymas escitalopramu nesutrikdė žiurkių aktyvumo ir noro tirti nepažįstamą aplinką. Žiurkių aktyvumas 24 val. eigoje taip pat nepakito.

### **3.4. Farmakologiškai sukeltų elgsenos skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir reakcijai į gydymą melatoninu**

Šiame etape žiurkės alkoholį gėrė kas antrą dieną, o toks gėrimas reiškia didesnę motyvaciją jį vartoti. Didinant alkoholio koncentraciją, žiurkių motyvacija jį gerti ėmė mažėti, nes žiurkės alkoholį vartoja laisvu pasirinkimu, o nuo 6% alkoholio skonis vis labiau tampa atstumiantis, t.y., kuo didesnė koncentracija – tuo didesnė aversija.

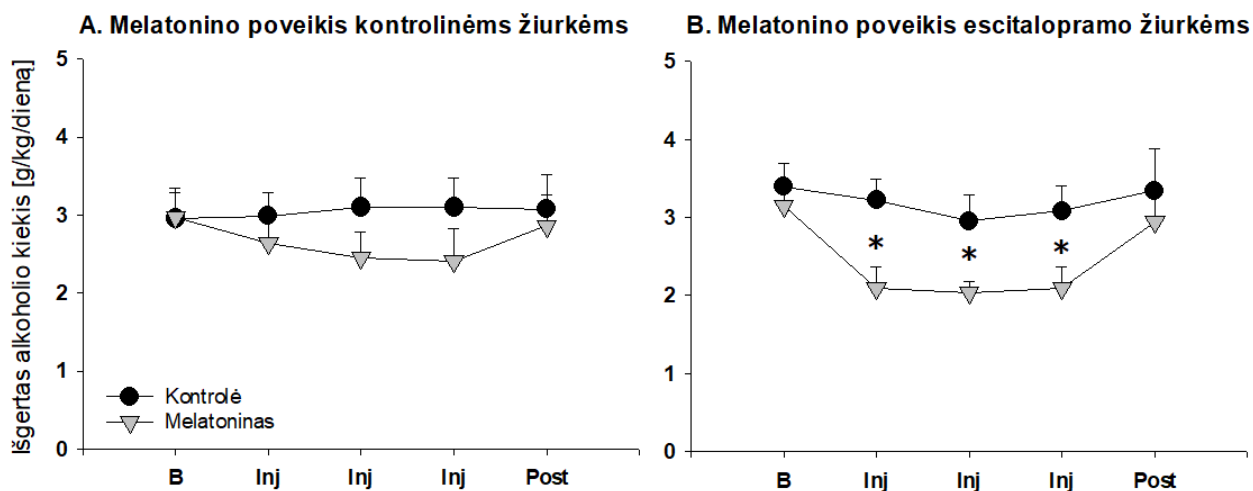
Paprastai patelės alkoholio suvartoja daugiau, nei žiurkių patinai, tačiau mūsų tyrime to nepastebėjome. Kontrolinių ir escitalopraminių patelių išgeriamo alkoholio kiekis buvo labai panašus (pav. 22A). Blokuotų duomenų dispersinė analizė su pakartotiniais matavimais parodė, kad kontroliniai ir escitalopraminiai žiurkių patinai reikšmingai skirtingai vartojo 8% koncentracijos alkoholį [lyginama sąveika faktorių koncentracija ir grupė  $F(3,95)=3.0$ ,  $p<0.05$ ] (pav. 22B), tačiau padidinus alkoholio koncentraciją, išgerto alkoholio kiekis sumažėjo ir skirtumas tarp grupių išnyko dėl didesnės aversijos alkoholio skoniui ir atitinkamai sumažėjusios motyvacijos jį gerti.





**22 pav.** Viso eksperimento metu vidutiniškai išgertas alkoholio kiekis. Pateikti vidutiniai išgerto kiekio duomenys, nes žiurkės 3 dienas gėrė 5%, 3 dienas 8%, 9 dienas 10% ir 3 dienas 20% koncentracijos alkoholi. **A.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių išgertas skirtingo alkoholio koncentracijos kiekis, paskaičiuotas g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai). **B.** Kontrolinių ir escitalopramu gydytų patinų išgertas skirtingo alkoholio koncentracijos kiekis, paskaičiuotas g gryno etanolio tenkančio 1 kg kūno masės per dieną (g/kg/dienai). \*Nurodo reikšmingus skirtumus tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytos grupės patinų geriant 8% alkoholi,  $p < 0.05$

Po šio gėrimo etapo, patelės baigė dalyvavimą eksperimente, o gydymas melatoninu buvo tęsiamas tik su žiurkių patiniais. Melatonino biologinė paskirtis – padidinti su tamsos periodu susijusi elgesį todėl buvo tikimasi, kad prieš tamsą suleidus melatonino žiurkė ims labiau tyrinėti aplinką, taps aktyvesnės tamsiuoju paros metu ir mažiau domėsis alkoholiu.



**23 pav.** Išgertas alkoholio kiekis (t.y., gryno etanolio kiekis, g, tenkantis 1 kg kūno masės per dieną, g/kg/dienai) prieš, per ir po gydymo arba kontroliniu tirpalu arba 40 mg/kg melatonino. **A.** kontrolinėms žiurkėms (n=9), **B.** escitalopramu gydytoms žiurkėms (n=8). Grafike: B – bazinis gėrimas; Inj – injekcijos dienos (vieną kartą per dieną, prieš tamsą); Post – pirma diena po gydymo. Rezultatai pateikti vidutinėmis reikšmėmis  $\pm$  S.E.M. \*Nurodo reikšmingus skirtumus tarp gydymo melatoninu ir kontrolinių injekcijų,  $p < 0.05$

Farmakologiniame gydyme melatoninu buvo naudojamos tik daugiau negu 1.5 mg/kg per dieną geriančios žiurkės. Atlikę blokuotų duomenų dispersinę analizę su pakartotinais matavimais radome, kad sąveika tarp faktorių nebuvo statistiškai patikimai skirtinga, todėl panaudojome post hoc Tukey testą ir ši analizė parodė statistiškai reikšmingus skirtumus escitalopramu gydytoms žiurkėms melatoninu [lyginamas faktorius grupė:  $F(1,79)=6.25$ ,  $p < 0.05$ ] lyginant su escitalopramu gydytomis žiurkėmis, kurios gavo kontrolines injekcijas (pav. 23B). Statistiškai reikšmingų skirtumų neradome tarp kontrolinių žiurkių gavusių kontrolines injekcijas ar melatoniną [ $p=0.38$ ]. Nors matome, kad melatoninas šiek tiek sumažino išgeriamą alkoholio kiekį (pav. 23A). Šis rezultatas nestebina, nes žiurkių naujagimių depresijos modelis, turėjo sukelti ir atitinkamus miego sutrikimus, kuriuos tikėtasi, kad efektyviau paveiks melatoninas ir atstatydamas miego ciklą, sumažins ir išgeriamą alkoholio kiekį bei potraukį jam. Vis dėlto, tokia išvada padaryti būtų reikalingi dar išsamesni tyrimai.

## 4. REZULTATŲ APTARIMAS

Šio tyrimo tikslas buvo išsiaiškinti tam tikrų individualių elgsenos charakteristikų įtaką alkoholio gėrimui ir gydymo, skirto alkoholio vartojimo sumažinimui, efektyvumui žiurkėse. Norėdami pasiekti šį tikslą savo darbą išskirstėme kelis etapus, kur pirmajame tyrinėjome natūralios žiurkių elgsenos charakteristikų įtaka alkoholio gėrimui ir lamotrigino gydymo efektyvumui. Antrajame tyrime sukėlėme farmakologiniu būdu elgesio pokyčius, remiantis žiurkių naujagimių depresijos modeliu, ir atlikome escitalopramu gydytų žiurkių elgsenos pokyčių charakterizavimą. Ir pabaigoje, stebėjome ir analizavome farmakologiškai sukeltų elgsenos skirtumų įtaką alkoholio gėrimui ir reakcijai į gydymą melatoninu.

### 4.1. Pirmasis tyrimas

**Natūralios elgsenos charakteristikų įtaka alkoholio gėrimui.** Charakterizuojant šiame eksperimente dalyvaujančias žiurkes mes atlikome visą eilę elgsenos testų (cukraus preferencijos, Porsolt priverstinio plaukimo, socialinės elgsenos, atviro lauko ir lokomotorinio aktyvumo testus) Šio tyrimo rezultatai parodė, kad įvairūs natūralios elgsenos bruožai, pamatuoti prieš suteikiant žiurkėms laisvą prieigą prie alkoholio, įtakoja savanorišką alkoholio gėrimą. Buvo atrasta, kad cukraus preferencija turi statistiškai reikšmingą atvirkštinį ryšį su išgeriamu alkoholio kiekiu (pav. 8) – nesidomėjimas cukraus tirpalu asocijavosi su didesniu domėjimusi alkoholiu. Taip pat buvo rasta teigiama koreliacija tarp žiurkės baikštumo ir išgeriamo alkoholio kiekio (pav. 11) – kuo žiurkė buvo baikštesnė, tuo ji išgėrė daugiau alkoholio. Bailey ir kolegos (2021) apžvalginiam straipsnyje taip pat rašo apie nerimo, baikštumo sąsajas su alkoholio ir kitų psichoaktyvių medžiagų vartojimu. Tai būtų galima paaiškinti tuo, kad alkoholis turi slopinantį poveikį smegenims ir veikia raminančiai, todėl baikštesnei žiurkei jo poveikis turėtų būti pageidautinas, nes padėtų sumažinti nerimą bei streso efektą (žiurkei gyvenimas vienai, atskirtai nuo grupės, sukelia stresą). Taip pat buvo atrasta, deja, statistiškai nereikšminga, koreliacija tarp mažesnio žiurkių lokomotorinio aktyvumo bei nesidomėjimo socialiniu bendravimu ir didesnio gėrimo.

Gydymas lamotriginu neparodė statistiškai reikšmingų skirtumų (pav. 13), tačiau galime matyti tendenciją, kad žiurkės, kurios turi anhedoniją – stipriau reaguoja į gydymą lamotriginu ir sumažina alkoholio gėrimą, o žiurkės, kurios neturi anhedonijos, lamotriginas gali netgi padidinti išgeriamą alkoholio kiekį (pav. 14). Šis atradimas yra visiškai naujas, todėl negalime palyginti šio aspekto su anksčiau atliktais tyrimais. Žinoma, svarbu būtų tęsti šiuos tyrimus, kad įsitikintume jog tokia tendencija

nėra atsitiktinumas. Vengeliene, Noori ir Spanagel (2013) alkoholizmo gydymui taip pat naudojo 5 mg/kg lamotriginą, leista du kartus per dieną, abstinencijos pabaigoje, kuris parodė galintis sumažinti išgeriamą alkoholio kiekį atkryčio metu. Mūsų tyrimas parodė, kad abstinencijos nepertrauktas gėrimas (bazinis) paveikia žiurkes skirtingai – pasirodė, kad tokiomis sąlygomis sumažinti išgertą alkoholio kiekį yra sunkiau.

**Natūralios elgsenos charakteristikų įtaka gydymo lamotriginu efektyvumui.** Analizuojant gydymo lamotriginu efektyvumą konkrečioms žiurkėms, buvo atrasta labai stipri tendencija efektyvesniam lamotrigino poveikiui toms žiurkėms, kurios neteikė pirmenybės cukraus tirpalui (pav. 14), t.y., turėjo elgesio ypatumų, panašių į depresiją. Toks lamotrigino efektas turi pagrindimą, nes šis vaistas žmonėms yra naudojamas ne tik kaip antikonvulsinis vaistas, bet ir kaip vaistas gydyti depresijai bei bipoliniam sutrikimui (McIntyre et al., 2020; Solmi et al., 2016). AVS gydymas lamotriginu vis dar yra pakankamai naujas bandymas spręsti ir palengvinti šio sutrikimo eigą (Vengeliene, Heidbreder & Spanagel, 2007; Zalewska-Kaszubska et al., 2015).

Skysčių gėrimo stilius, kuris buvo registruojamas GRS likometeriniuose narveliuose atskleidė kelis aspektus. GRS duomenų analizė parodė, kad pagrindinis gėrimas vyksta tamsiuoju paros metu, ir daugelis žiurkių šviesoje prie butelių neprieina. Analizuojant laiko intervalą tarp gėrimo įvykiu tamsioje, pasirodė, kad žiurkės alkoholį geria kur kas rečiau negu vandenį – maždaug kas valandą (pav. 16E), o vandenį – kas pusvalandį (pav. 17E).

Gydymo lamotriginu detali analizė parodė, kad 10 mg/kg lamotrigino žiurkėms reikšmingai sumažino gėrimo įvykio dydį bei gėrimo greitį (pav. 16C-D). Vengeliene, Noori ir Spanagel (2013) tyrime atrado, kad gydymo lamotriginu metu, vieno alkoholio gėrimo įvykio dydis buvo sumažėjęs, o laikas tarp gėrimo įvykių nepakito. Šiame tyrime mes radome panašius pokyčius.

Geriant vandenį, žiurkės statistiškai reikšmingai padidino išgertą vandens kiekį, kai jos buvo gydomos 10 mg/kg lamotriginu (pav. 17A). Toks padidėjimas rodo, kad gyvūnui vanduo ėmė patikti labiau. Šie rezultatai iš dalies atsikartoja Vengeliene, Noori ir Spanagel (2013) tyrimą, kur žiurkės gydymo metu taip pat padidino išgeriamą vandens kiekį.

Įdomu ir tai, kad lamotriginas buvo efektyviausias žiurkėms, kurios gėrė alkoholį dažnai ir mažesniais kiekiais (pav. 18).

Apibendrinant, šis tyrimas parodė gydymo efektyvumo sąsajas su skirtingoms gėrimo stiliaus ir elgsenos charakteristikoms. Deja, kaip ir buvo svarstoma, natūralių elgsenos skirtumų nepakako ryškiau charakterizuoti turimas žiurkes, nes kai kuriais atvejais radome tik tendenciją tarp elgsenos požymių ir

alkoholio gėrimo, bei gydymo efektyvumo. Todėl 2-ajame tyrime žiurkėms sukėlėme farmakologinius elgsenos skirtumus.

## 4.2. Antrasis tyrimas

### **Žiurkių naujagimių depresijos modelis ir atsiradusių elgesio pokyčių charakterizavimas.**

Šiame eksperimente išpildėme kelis tyrimo uždavinius: sumodeliavome elgesio pokyčius žiurkių jaunikliams, vieną kartą per dieną leidžiant serotonino transporterių inhibitoriaus escitalopramo bei vėliau išmatavome įvairias elgesio charakteristikas: su depresija susijusį elgesį, socialinį elgesį, baikštumą, norą tyrinėti aplinką ir lokomotorinį aktyvumą.

Nors pasirinktas modelis vadinasi „žiurkių naujagimių depresijos modelis“, tačiau mes neradome statistiškai reikšmingo su depresija susijusio elgsenos skirtumų tarp sveikų ir farmakologiškai paveiktų žiurkių (cukraus tirpalo preferencijos testas bei Porsolt testas, pav. 18 ir 19). Nors buvo stebima tendencija, kad patelės greičiau nei patinai pasiduoda plaukimo teste (pav. 19), bet tai galėjo įvykti dėl kitų veiksnių, tokių kaip lyties fizinio pajėgumo skirtumai.

Šiame tyrime buvo pastebėta tendencija, kad escitalopramu gydytos žiurkės buvo linkusios mažiau socializuotis su jaunesne, dar nepažįstama, žiurke (pav. 20). Yra manoma, kad mūsų naudotas depresijos modelis gali sukelti ir į autizmą panašius bruožus (Khatri, Simpson, Lin & Paul, 2013), o toks sutrikimas atneštų daug socialinio elgsenos pokyčių, tačiau mūsų tyrime to nepastebėjome. Taip pat, taikant šį modelį buvo pastebėti seksualinio elgsenos pokyčiai, sumažėjusi agresija patinams, tačiau mes savo tyrime šio aspekto netyrinėjome (McDowell, Strohl & Feng, 2012).

Statistiškai reikšmingi skirtumai buvo rasti tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų patelių savęs prausimo (grooming) atviro lauko testo metu (pav. 21A). Šis elgesys parodo, kad žiurkė yra baikštesnė. Jei žiurkė turi baikštumo bruožą, labai tikėtina, kad ji gers daugiau, nes alkoholis veikia slopinančiai. Baikštumas yra siejamas su psichoaktyvių medžiagų vartojimo sutrikimais (Belin, Belin-Rauscent, Everitt ir Dalley, 2016).

Yra žinoma, kad žiurkių naujagimių gydymas escitalopramu sukelia miego sutrikimus (ypač sutrumpindamas REM miego latenciją) (McDowell, Strohl & Feng, 2012; Savelyev et al., 2012; Yavari, Vogel & Neill, 1993). Deja, 24val. lokomotorinio aktyvumo matavimai neparodė esminių aktyvumo skirtumų tarp kontrolinių ir escitalopramu gydytų žiurkių. Nors reikia pripažinti, kad tai nebuvo optimalus metodas miego sutrikimams matuoti.

**Farmakologiškai sukeltų elgesio skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir reakcijai į gydymą melatoninu.** Kaip buvo pristatyta anksčiau, didelė tikimybė jog alkoholio vartojimo dažnumas ir kiekis siejasi su įvairiomis elgesio charakteristikomis – depresyviu elgesiu, padidėjusiu baikštumu, sutrikusiu socialiniu elgesiu, miego sutrikimais. Šiame tyrime escitalopramu gydyti patinai gėrė statistiškai patikimai daugiau 8% alkoholio (pav. 23), o patelėms matėsi tik tendencija gerti daugiau alkoholio. Vienintelis paaiškinimas, kurį galime daryti remdamiesi šio tyrimo duomenimis, kodėl šios žiurkės gėrė daugiau alkoholio, yra escitalopramu gydytų žiurkių sumažėjęs noras socialiai bendrauti. Ankstesni tyrimai parodė, kad socialinių santykių įtaka žiurkių alkoholio gėrimui yra reikšminga – pvz., žemesnio rango ar socialiai izoliuotos žiurkės geria daugiau alkoholio (Becker et al., 2011). Patelių didesnis baikštumas taip pat galėtų būti šiek tiek padidėjusio gėrimo priežastimi.

Gydymo melatoninu eksperimente dalyvavo tik patinai (kontrolinė ir escitalopramo grupė). Jie buvo gydomi melatoninu siekiant paveikti ne tik jų galimai pakitusią miego kokybę, bet ir sumažinti išgeriamą alkoholio kiekį (pav. 24). Alkoholizmo gydymas melatoninu yra dar visiškai novatoriškas gydymo būdas, todėl randami vos keli tyrimai, kurie jau yra išbandę šį gydymo būdą.

Tyrimai su gyvūnais siūlo naudoti junginius, nukreiptus į atlygio ir melatoninerginę sistemas. Oreksino neuronai koordinuoja sužadinimą, energijos homeostazę ir reguliuoja miego/budrumo ciklą (Inutsuka & Yamanaka, 2013), o melatoninas sinchronizuoja kūno elgesį ir fiziologines funkcijas susijusias su dieniniu ir naktiniu elgesiu (Buijs et al., 2003). Įrodyta, kad junginiai, nukreipti į šias sistemas, veiksmingai mažina alkoholio ieškojimą ir atkryčio patyrimą žiurkėms (Lawrence et al., 2006; Vengeliene et al., 2015). Vengelienė ir kolegos (2015) taip pat pasiūlė, kad normalios miego architektūros atkūrimas turi papildomą teigiamą poveikį mažinant alkoholio vartojimą. Tą patį matome ir mūsų tyrime – žiurkės gydomos melatoninu bei tokiu būdu galimai aktyvindamos savo naktinį elgesį sumažino išgeriamą alkoholio kiekį. Kontrolinėms žiurkėms melatonino poveikis buvo statistiškai nepatikimas, o escitalopramu gydytoms žiurkėms – reikšmingas. Šie rezultatai gana įtikinimai parodo, kad naktinio elgesio pastiprinimas escitalopramu gydytoms žiurkėms yra reikšmingesnis ir galime daryti prielaidą, kad šios žiurkės galimai turi sutrikusį cirkadinį ritmą. Žinoma, norint diferencijuoti kokius miego sutrikimus turėjo išvysčiusios mūsų tyrimo žiurkės, būtų reikalingi atitinkami miego tyrimai.

**Tyrimo ribotumai.** Ieškant koreliacijos tarp natūralių elgesio skirtumų ir alkoholio gėrimo ar gydymo efektyvumo galima buvo tikėtis nedidelių efektų. Todėl pirmo tyrimo ribotumas buvo nedidelis gyvūnų kiekis. Šis trūkumas galėjo būti priežastimi ribotos duomenų statistinės galios, ir kai kuriais atvejais buvo stebimos tik tendencijos.

Antro tyrimo metu panaudotas modelis, kaip ir bet kuris kitas gyvūninis modelis, turi trūkumų (pvz., gyvūnai negali introcepcijos būdu atpažinti ir išreikšti, pavyzdžiui, kaltės ar gėdos jausmo, taip pat, gyvūnai neturi minčių apie savižudybę ir nenori nutraukti savo gyvenimo, kas yra neretai stebima žmonėse, kurie chroniškai, o kartais ir ūmiai padaugina alkoholio (Schilling et al., 2009)). Tai gali tapti pagrindine priežastimi kodėl skirtingų laboratorijų tyrimų rezultatai nesutampa. Pvz., šio tyrimo metu escitalopramu gydytoms žiurkėms su depresija susijęs elgesys nebuvo rastas.

**Apibendrinant**, mūsų tyrime panaudojome du, vis dar labai novatoriškus, medikamentus – lamotriginą ir melatoniną. Nors lamotriginas sveikoms žiurkėms nerodė statistiškai reikšmingų skirtumų, tačiau matome tendenciją, kad lamotriginas efektyviau mažino gėrimą žiurkėms, kurios turėjo su depresija susijusio elgesio požymius, todėl tai būtų verta toliau tyrinėti. Įdomu ir tai, kad lamotriginas buvo efektyviausias toms žiurkėms, kurios gėrė alkoholį dažnai ir mažesniais kiekiais.

Melatoninas escitalopramu gydytoms žiurkėms efektyviai sumažino norą vartoti alkoholį, tikriausiai veikdamas sutrikdytą cirkadinį aktyvumą bei atstatydamas normalią miego architektūrą.

## IŠVADOS

1. Darbe buvo pademonstruota didesnė tikimybė, kad žiurkės, kurios turi su depresija susijusius požymius gers daugiau alkoholio ir stipriau reaguos į gydymą lamotriginu;
2. Lamotriginas efektyviau sumažino alkoholio gėrimą dažniau ir mažesniais kiekiais alkoholi geriančioms žiurkėms;
3. Žiurkių naujagimių depresijos modelis sukėlė patelėms baikštumą ir visoms žiurkėms šiek tiek sumažino socialino elgesio sąveikas;
4. Melatoninas efektyviau sumažino alkoholio gėrimą escitalopramu gydytoms žiurkėms dėl jų galimai sutrikusio cirkadinio ritmo;
5. Baikštesnės žiurkės gėrė daugiau alkoholio.



VILNIAUS UNIVERSITETAS  
Gyvybės mokslų centras  
Neurobiologijos ir biofizikos katedra

Ieva Pocevičiūtė  
Magistro baigiamasis darbas

**Individualių skirtumų įtaka alkoholio gėrimui ir gydymo efektyvumui žiurkėse**

**SANTRAUKA**

Nesaikingas alkoholio vartojimas bei genetiniai aspektai gali sukelti alkoholio priklausomybę, vieną iš labiausiai paplitusių psichinių sutrikimų pasaulyje. Tarp žmonių ir gyvūnų, kurie turi priklausomybę nuo alkoholio, yra stebimas gana nemažas heterogeniškumas: skiriasi jų charakteriai, gėrimo stilius, skiriasi ir tai, kaip jie reaguoja į gydymą vaistais. Dėl neurocheminio alkoholio poveikio, priklausomybę nuo alkoholio galima gydyti taikant farmakoterapiją, kuri veikia skirtingus neurocheminius procesus.

Pirmajame tyrime buvo naudojamos 26 sveiki žiurkių patinai, o antrajame buvo naudojami patinai ir patelės – 42 žiurkės su farmakologiškai sukeltais elgesio skirtumais, naudojant žiurkių jauniklių depresijos modelį ir 39 kontrolinės žiurkės. Visoms žiurkėms buvo atlikti elgsenos testai: atviro lauko, socialinio elgesio, cirkadinio aktyvumo, anhedonijos, Porsolt. Po to, žiurkės 2 mėnesius vartojo alkoholį, gėrimo registravimo sistema fiksavo skysčių gėrimo įpročius ir sveikos žiurkės buvo gydomos lamotriginu, o turinčios farmakologiškai sukeltus elgesio skirtumus – melatoninu.

Buvo rasta, kad labiau į depresiją linkusios ir baikštesnės žiurkės vartojo daugiau alkoholio. Taip pat, buvo pademonstruota, kad lamotriginas sveikoms žiurkėms nerodė statistiškai reikšmingų skirtumų, tačiau analizuojant individualių skirtumų įtaką gydymo efektyvumui, buvo matoma tendencija, kad lamotriginas efektyviau mažina išgeriamą alkoholio kiekį su depresija susijusį elgesį turinčioms žiurkėms bei toms žiurkėms kurios geria alkoholį dažniau ir mažesniais kiekiais. Melatoninas, žiurkėms, kurioms buvo farmakologiškai sukelti elgesio skirtumai, suveikė efektyviai, mažindamas alkoholio savanorišką vartojimą.

Galime daryti išvadą, kad norint tirti gydymo, mažinančio alkoholio gėrimą, efektyvumą reikia atsižvelgti į individualius elgsenos skirtumus tarp žiurkių.

VILNIUS UNIVERSITY  
Life sciences center  
Department of Neurobiology and Biophysics

Ieva Pocevičiūtė  
Master thesis

**The influence of individual differences on alcohol consumption and the effectiveness of drug treatment in rats**

**SUMMARY**

Excessive alcohol consumption and genetic aspects can lead to alcohol dependence, one of the most common mental disorders in the world. There is considerable heterogeneity between humans and animals that are addicted to alcohol: their character, drinking style and how they respond to drug treatment differ. Due to the neurochemical effects of alcohol, alcohol dependence can be treated with pharmacotherapy that affects different neurochemical processes.

In the first experiment 26 healthy rats were used and in the second experiment both female and male rats were used, i.e., 42 rats with pharmacologically induced behavioral impairments, using a rat neonatal depression model, and 39 control rats. Behavioral tests were performed in all rats: open field, social behavior, circadian activity, anhedonia, Porsolt swim test. Thereafter, all rats received free access to alcohol for 2 months; the drinking registration system (lickometers) was used to record fluid drinking habits. The healthy rat group was treated with lamotrigine and rats with pharmacologically induced differences, as well as their healthy control counterpart rats, were treated with melatonin.

Anhedonia- and anxiety-like behaviour in healthy rats were correlating with higher amounts of voluntary consumed alcohol. It was found that lamotrigine treatment did not affect voluntary baseline alcohol consumption in healthy rats, but there was a trend towards better treatment effectiveness in rats with anhedonia-like symptoms. It has been also demonstrated that drinking style had a significant impact on the effectiveness of lamotrigine treatment. Stronger reduction in alcohol consumption was found in rats which had smaller alcohol drinking bouts and shorter interbout intervals. Melatonin was more effective in reducing alcohol intake in rats with pharmacologically induced behavioral differences.

In conclusion, this study demonstrates the impact of interindividual differences on the effectiveness drug treatment with respect to changes in alcohol consumption.

## LITERATŪRA

- Abelaira, H. M., Réus, G. Z., & Quevedo, J. (2013). Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Revista Brasileira De Psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)*, *35 Suppl 2*, S112-120. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1098>
- Agosti, V., & Levin, F. R. (2006). The Effects of Alcohol and Drug Dependence on the Course of Depression. *American Journal on Addictions*, *15(1)*, 71–75. <https://doi.org/10.1080/10550490500419102>
- Ahmad, S., Fowler, L. J., & Whitton, P. S. (2004). Effect of acute and chronic lamotrigine on basal and stimulated extracellular 5-hydroxytryptamine and dopamine in the hippocampus of the freely moving rat. *British journal of pharmacology*, *142(1)*, 136-142.
- Akbar, M., Egli, M., Cho, Y.-E., Song, B.-J., & Noronha, A. (2018). Medications for alcohol use disorders: An overview. *Pharmacology & Therapeutics*, *185*, 64–85. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.11.007>
- Alasmari, F., Goodwani, S., McCullumsmith, R. E., & Sari, Y. (2018). Role of glutamatergic system and mesocorticolimbic circuits in alcohol dependence. *Progress in Neurobiology*, *171*, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2018.10.001>
- Altieri, S. C., Yang, H., O'Brien, H. J., Redwine, H. M., Senturk, D., Hensler, J. G., & Andrews, A. M. (2015). Perinatal vs Genetic Programming of Serotonin States Associated with Anxiety. *Neuropsychopharmacology*, *40(6)*, 1456–1470. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.331>
- Anker, J. J., & Kushner, M. G. (2019). Co-Occurring Alcohol Use Disorder and Anxiety. *Alcohol Research : Current Reviews*, *40(1)*. <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.1.03>
- Anton, R. F., O'Malley, S. S., Ciraulo, D. A., Cisler, R. A., Couper, D., Donovan, D. M., Gastfriend, D. R., Hosking, J. D., Johnson, B. A., LoCastro, J. S., Longabaugh, R., Mason, B. J., Mattson, M. E., Miller, W. R., Pettinati, H. M., Randall, C. L., Swift, R., Weiss, R. D., Williams, L. D., ... COMBINE Study Research Group. (2006). Combined pharmacotherapies and behavioral interventions for alcohol dependence: The COMBINE study: a randomized controlled trial. *JAMA*, *295(17)*, 2003–2017. <https://doi.org/10.1001/jama.295.17.2003>
- Atkinson, E. A., & Finn, P. R. (2019). Sex Differences in Trait Anxiety's Association with Alcohol Problems in Emerging Adults: The Influence of Symptoms of Depression and Borderline Personality. *Journal of Substance Use*, *24(3)*, 323–328. <https://doi.org/10.1080/14659891.2019.1572800>

- Axelrod, J., Wurtman, R. J., & Snyder, S. H. (1965). Control of Hydroxyindole O-Methyltransferase Activity in the Rat Pineal Gland by Environmental Lighting. *Journal of Biological Chemistry*, *240*(2), 949–954. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)45266-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)45266-5)
- Bailey, K. L., Samuelson, D. R., & Wyatt, T. A. (2021). Alcohol use disorder: A pre-existing condition for COVID-19? *Alcohol (Fayetteville, N.y.)*, *90*, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2020.10.003>
- Barrio, P., Ortega, L., Guardia, J., Roncero, C., Yuguero, L., & Gual, A. (2018). Who Receives Nalmefene and How Does It Work in the Real World? A Single-Arm, Phase IV Study of Nalmefene in Alcohol Dependent Outpatients: Baseline and 1-Month Results. *Clinical Drug Investigation*, *38*(2), 147–155. <https://doi.org/10.1007/s40261-017-0590-4>
- Baumohl, J. (1990). Inebriate institutions in North America, 1840–1920. *British Journal of Addiction*, *85*(9), 1187–1204. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.1990.tb03444.x>
- Becker, H. C., Lopez, M. F., & Doremus-Fitzwater, T. L. (2011). Effects of stress on alcohol drinking: A review of animal studies. *Psychopharmacology*, *218*(1), 131. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2443-9>
- Barkley-Levenson, A. M., & Crabbe, J. C. (2015). Genotypic and sex differences in anxiety-like behavior and alcohol-induced anxiolysis in High Drinking in the Dark selected mice. *Alcohol*, *49*(1), 29–36
- Belin, D., Belin-Rauscent, A., Everitt, B. J., & Dalley, J. W. (2016). In search of predictive endophenotypes in addiction: insights from preclinical research. *Genes, Brain and Behavior*, *15*(1), 74–88
- Bell, R. L., Sable, H. J. K., Colombo, G., Hyytia, P., Rodd, Z. A., & Lumeng, L. (2012). Animal models for medications development targeting alcohol abuse using selectively bred rat lines: Neurobiological and pharmacological validity. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *103*(1), 119–155. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.07.007>
- Boden, J. M., & Fergusson, D. M. (2011). Alcohol and depression. *Addiction*, *106*(5), 906–914. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2010.03351.x>
- Brower, K. J. (2001). Alcohol's Effects on Sleep in Alcoholics. *Alcohol Research & Health*, *25*(2), 110–125.
- Campbell, E. J., Marchant, N. J., & Lawrence, A. J. (2020). A sleeping giant: Suvorexant for the treatment of alcohol use disorder? *Brain Research*, *1731*, 145902. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.08.005>

- Carnicella, S., Ron, D., & Barak, S. (2014). Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 48(3), 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2014.01.006>
- Carvalho, A. F., Heilig, M., Perez, A., Probst, C., & Rehm, J. (2019). Alcohol use disorders. *Lancet (London, England)*, 394(10200), 781–792. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31775-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31775-1)
- Chan, Y.-F., Dennis, M. L., & Funk, R. R. (2008). Prevalence and comorbidity of major internalizing and externalizing problems among adolescents and adults presenting to substance abuse treatment. *Journal of Substance Abuse Treatment*, 34(1), 14–24. <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2006.12.031>
- Clayton, P. J., & Lewis, C. E. (1981). The significance of secondary depression. *Journal of Affective Disorders*, 3(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0165-0327\(81\)90016-1](https://doi.org/10.1016/0165-0327(81)90016-1)
- Cohen, E., Feinn, R., Arias, A., & Kranzler, H. R. (2007). Alcohol treatment utilization: Findings from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Drug and Alcohol Dependence*, 86(2–3), 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2006.06.008>
- Corrigan, A., & Pickering, G. (2019). Ketamine and depression: A narrative review. *Drug Design, Development and Therapy*, 13, 3051–3067. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S221437>
- Crabbe, J. C. (2008). Neurogenetic studies of alcohol addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1507), 3201–3211.
- Crespi, F. (2012). Influence of melatonin or its antagonism on alcohol consumption in ethanol drinking rats: A behavioral and in vivo voltammetric study. *Brain Research*, 1452, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.10.050>
- Criado, J. R., Wills, D. N., Walker, B. M., & Ehlers, C. L. (2008). Effects of adolescent ethanol exposure on sleep in adult rats. *Alcohol*, 42(8), 631–639. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2008.08.001>
- Deneris, E., & Gaspar, P. (2018). Serotonin neuron development: Shaping molecular and structural identities. *WIREs Developmental Biology*, 7(1), e301. <https://doi.org/10.1002/wdev.301>
- Di Nicola, M., De Filippis, S., Martinotti, G., De Risio, L., Pettorruso, M., De Persis, S., Maremmani, A. G. I., Maremmani, I., di Giannantonio, M., & Janiri, L. (2017). Nalmefene in Alcohol Use Disorder Subjects with Psychiatric Comorbidity: A Naturalistic Study. *Advances in Therapy*, 34(7), 1636–1649. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0546-3>
- Doghramji Karl. (2007). Melatonin and Its Receptors: A New Class of Sleep-Promoting Agents. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 3(5 suppl), S17–S23. <https://doi.org/10.5664/jcsm.26932>

- Dwyer, S. M., & Rosenwasser, A. M. (1998). Neonatal clomipramine treatment, alcohol intake and circadian rhythms in rats. *Psychopharmacology*, *138*(2), 176–183. <https://doi.org/10.1007/s002130050660>
- Ebrahim, I. O., Shapiro, C. M., Williams, A. J., & Fenwick, P. B. (2013). Alcohol and sleep I: effects on normal sleep. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *37*(4), 539–549
- Fidler, T. L., Clews, T. W., & Cunningham, C. L. (2006). Reestablishing an Intragastric Ethanol Self-infusion Model in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *30*(3), 414–428. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2006.00046.x>
- Foo, J., Noori, H., Yamaguchi, I., Vengeliene, V., Cosa, A., Nakamura, T., Morita, K., Spanagel, R., & Yamamoto, Y. (2017). Dynamical state transitions into addictive behaviour and their early-warning signals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *284*, 20170882. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0882>
- Gallate, J. E., Morley, K. C., Ambermoon, P., & McGregor, I. S. (2003). The consequences of beer consumption in rats: Acute anxiolytic and ataxic effects and withdrawal-induced anxiety. *Psychopharmacology*, *166*(1), 51–60. <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1291-z>
- Gellén, B., Völgyi, K., Györfy, B. A., Darula, Z., Hunyadi-Gulyás, É., Baracska, P., Czurkó, A., Hernádi, I., Juhász, G., Dobolyi, Á., & Kékesi, K. A. (2017). Proteomic investigation of the prefrontal cortex in the rat clomipramine model of depression. *Journal of Proteomics*, *153*, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.06.027>
- Gendy, M. N. S., Lagzdins, D., Schaman, J., & Le Foll, B. (2020). Melatonin for Treatment-Seeking Alcohol Use Disorder patients with sleeping problems: A randomized clinical pilot trial. *Scientific Reports*, *10*. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65166-y>
- Gerhard, D. M., Wohleb, E. S., & Duman, R. S. (2016). Emerging treatment mechanisms for depression: Focus on glutamate and synaptic plasticity. *Drug Discovery Today*, *21*(3), 454–464. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.01.016>
- Gill, K., Amit, Z., & Smith, B. R. (1996). The regulation of alcohol consumption in rats: The role of alcohol-metabolizing enzymes—Catalase and aldehyde dehydrogenase. *Alcohol*, *13*(4), 347–353. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(96\)00006-7](https://doi.org/10.1016/0741-8329(96)00006-7)
- Gilpin, N. W., Richardson, H. N., Cole, M., & Koob, G. F. (2008). Vapor Inhalation of Alcohol in Rats. *Current Protocols in Neuroscience / Editorial Board, Jacqueline N. Crawley ... [et Al.]*, CHAPTER, Unit-9.29. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0929s44>

- Goh, K. K., Chen, C.-H., Chiu, Y.-H., & Lu, M.-L. (2019). Lamotrigine augmentation in treatment-resistant unipolar depression: A comprehensive meta-analysis of efficacy and safety. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 33(6), 700–713. <https://doi.org/10.1177/0269881119844199>
- Hayton, S. J., Mahoney, M. K., & Olmstead, M. C. (2012). Behavioral traits predicting alcohol drinking in outbred rats: an investigation of anxiety, novelty seeking, and cognitive flexibility. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 36(4), 594-603
- Hasegawa, K., Mukasa, H., Nakazawa, Y., Kodama, H., & Nakamura, K. (1991). Primary and secondary depression in alcoholism—Clinical features and family history. *Drug and Alcohol Dependence*, 27(3), 275–281. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(91\)90010-v](https://doi.org/10.1016/0376-8716(91)90010-v)
- Heilig, M., Augier, E., Pfarr, S., & Sommer, W. H. (2019). Developing neuroscience-based treatments for alcohol addiction: A matter of choice? *Translational Psychiatry*, 9(1), 255. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0591-6>
- Hilakivi, L. A., Sinclair, J. D., & Hilakivi, I. T. (1984). Effects of neonatal treatment with clomipramine on adult ethanol related behavior in the rat. *Developmental Brain Research*, 15(1), 129–132. [https://doi.org/10.1016/0165-3806\(84\)90148-2](https://doi.org/10.1016/0165-3806(84)90148-2)
- Henniger, M. S., Spanagel, R., Wigger, A., Landgraf, R., & Höller, S. M. (2002). Alcohol self-administration in two rat lines selectively bred for extremes in anxiety-related behavior. *Neuropsychopharmacology*, 26(6), 729-736
- Holt, S. R., & Tobin, D. G. (2018). Pharmacotherapy for Alcohol Use Disorder. *The Medical Clinics of North America*, 102(4), 653–666. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.02.008>
- Hwa, L. S., Chu, A., Levinson, S. A., Kayyali, T. M., DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (2011). Persistent Escalation of Alcohol Drinking in C57BL/6J Mice With Intermittent Access to 20% Ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(11), 1938–1947. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01545.x>
- Jadhav, K. S., Magistretti, P. J., Halfon, O., Augsburg, M., & Boutrel, B. (2017). A preclinical model for identifying rats at risk of alcohol use disorder. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
- Johnson, B. A. (2004). Progress in the development of topiramate for treating alcohol dependence: from a hypothesis to a proof-of-concept study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(8), 1137-1144
- Jonas, D. E., Amick, H. R., Feltner, C., Bobashev, G., Thomas, K., Wines, R., Kim, M. M., Shanahan, E., Gass, C. E., Rowe, C. J., & Garbutt, J. C. (2014). Pharmacotherapy for Adults With Alcohol

- Use Disorders in Outpatient Settings: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, 311(18), 1889–1900. <https://doi.org/10.1001/jama.2014.3628>
- Kerstin, U.-M., & Maria, P. (2015). Oxytocin, ein Vermittler von Antistress, Wohlbefinden, sozialer Interaktion, Wachstum und Heilung/ Oxytocin, a mediator of anti-stress, well-being, social interaction, growth and healing. *Zeitschrift für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie*. <https://doi.org/10.13109/zptm.2005.51.1.57>
- Khantzian, E. J. (2013). Addiction as a self-regulation disorder and the role of self-medication. *Addiction*, 108(4), 668-669
- Khatri, N., Simpson, K. L., Lin, R. C., & Paul, I. A. (2014). Lasting neurobehavioral abnormalities in rats after neonatal activation of serotonin 1A and 1B receptors: possible mechanisms for serotonin dysfunction in autistic spectrum disorders. *Psychopharmacology*, 231(6), 1191-1200.
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3(8), 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)
- Kushner, M. G., Abrams, K., Thuras, P., Hanson, K. L., Brekke, M., & Sletten, S. (2005). Follow-up Study of Anxiety Disorder and Alcohol Dependence in Comorbid Alcoholism Treatment Patients. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29(8), 1432–1443. <https://doi.org/10.1097/01.alc.0000175072.17623.f8>
- Lawrence, A. J., Cowen, M. S., Yang, H. J., Chen, F., & Oldfield, B. (2006). The orexin system regulates alcohol-seeking in rats. *British journal of pharmacology*, 148(6), 752-759
- Laws, H. B., Ellerbeck, N. E., Rodrigues, A. S., Simmons, J. A., & Ansell, E. B. (2017). Social Rejection and Alcohol Use in Daily Life. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 41(4), 820–827. <https://doi.org/10.1111/acer.13347>
- Lerner, A. B., Case, J. D., Takahashi, Y., Lee, T. H., & Mori, W. (2002, May 1). *ISOLATION OF MELATONIN, THE PINEAL GLAND FACTOR THAT LIGHTENS MELANOCYTES I* (world). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/ja01543a060>
- Liang, J., & Olsen, R. W. (2014). Alcohol use disorders and current pharmacological therapies: The role of GABA(A) receptors. *Acta Pharmacologica Sinica*, 35(8), 981–993. <https://doi.org/10.1038/aps.2014.50>
- Likhitsathian, S., Uttawichai, K., Booncharoen, H., Wittayanookulluk, A., Angkurawaranon, C., & Srisurapanont, M. (2013). Topiramate treatment for alcoholic outpatients recently receiving residential treatment programs: A 12-week, randomized, placebo-controlled trial. *Drug and Alcohol Dependence*, 133(2), 440–446. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2013.06.032>



- Lipperman-Kreda, S., Paschall, M. J., F, S. R., & Morrison, C. N. (2018). Places and social contexts associated with simultaneous use of alcohol, tobacco and marijuana among young adults. *Drug and Alcohol Review*, *37*(2), 188–195. <https://doi.org/10.1111/dar.12537>
- Litten, R. Z., Egli, M., Heilig, M., Cui, C., Fertig, J. B., Ryan, M. L., Falk, D. E., Moss, H., Huebner, R., & Noronha, A. (2012). Medications development to treat alcohol dependence: A vision for the next decade. *Addiction Biology*, *17*(3), 513–527. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2012.00454.x>
- Litten, R. Z., Ryan, M. L., Falk, D. E., Reilly, M., Fertig, J. B., & Koob, G. F. (2015). Heterogeneity of Alcohol Use Disorder: Understanding Mechanisms to Advance Personalized Treatment. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *39*(4), 579–584. <https://doi.org/10.1111/acer.12669>
- Love, T. M. (2014). Oxytocin, motivation and the role of dopamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *119*, 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.06.011>
- Luo, X., Kranzler, H. R., Zuo, L., Wang, S., Blumberg, H. P., & Gelernter, J. (2005). CHRM2 gene predisposes to alcohol dependence, drug dependence and affective disorders: Results from an extended case–control structured association study. *Human Molecular Genetics*, *14*(16), 2421–2434. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi244>
- Lydon, D. M., Ram, N., Conroy, D. E., Pincus, A. L., Geier, C. F., & Maggs, J. L. (2016). The within-person association between alcohol use and sleep duration and quality in situ: An experience sampling study. *Addictive Behaviors*, *61*, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2016.05.018>
- Macchi, M. M., & Bruce, J. N. (2004). Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *25*(3), 177–195. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2004.08.001>
- Maisel, N. C., Blodgett, J. C., Wilbourne, P. L., Humphreys, K., & Finney, J. W. (2013). Meta-analysis of naltrexone and acamprosate for treating alcohol use disorders: When are these medications most helpful? *Addiction (Abingdon, England)*, *108*(2), 275–293. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2012.04054.x>
- Majchrowicz, E. (1975). Induction of physical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes in rats. *Psychopharmacologia*, *43*(3), 245–254. <https://doi.org/10.1007/BF00429258>
- Mann, K., Bladström, A., Torup, L., Gual, A., & van den Brink, W. (2013). Extending the treatment options in alcohol dependence: A randomized controlled study of as-needed nalmefene. *Biological Psychiatry*, *73*(8), 706–713. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.10.020>

- Mann, K., & Hermann, D. (2010). Individualised treatment in alcohol-dependent patients. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 260(2), 116–120. <https://doi.org/10.1007/s00406-010-0153-7>
- Marcucella, H., & Munro, I. (1986). Patterns of ethanol and water consumption as a function of restricted ethanol access and feeding condition. *Psychopharmacology*, 89(2), 145–149. <https://doi.org/10.1007/BF00310618>
- María-Ríos, C. E., & Morrow, J. D. (2020). Mechanisms of Shared Vulnerability to Post-traumatic Stress Disorder and Substance Use Disorders. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00006>
- Mason, B. J., Salvato, F. R., Williams, L. D., Ritvo, E. C., & Cutler, R. B. (1999). A double-blind, placebo-controlled study of oral nalmefene for alcohol dependence. *Archives of General Psychiatry*, 56(8), 719–724. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.56.8.719>
- McDowell, A. L., Strohl, K. P., & Feng, P. (2012). Sleep-related epilepsy in a Long-Evans hooded rat model of depression. *Sleep and Breathing*, 16(4), 1181–1191. <https://doi.org/10.1007/s11325-011-0630-x>
- Medic, G., Wille, M., & Hemels, M. E. (2017). Short-and long-term health consequences of sleep disruption. *Nature and science of sleep*, 9, 151.
- Miyata, H., Takahashi, M., Murai, Y., Tsuneyoshi, K., Hayashi, T., Meulien, D., Sørensen, P., & Higuchi, S. (2019). Nalmefene in alcohol-dependent patients with a high drinking risk: Randomized controlled trial. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 73(11), 697–706. <https://doi.org/10.1111/pcn.12914>
- Mon, A., Durazzo, T. C., & Meyerhoff, D. J. (2012). Glutamate, GABA, and other cortical metabolite concentrations during early abstinence from alcohol and their associations with neurocognitive changes. *Drug and Alcohol Dependence*, 125(1), 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2012.03.012>
- Mouton, A. J., Maxi, J. K., Souza-Smith, F., Bagby, G. J., Gilpin, N. W., Molina, P. E., & Gardner, J. D. (2016). ALCOHOL VAPOR INHALATION AS A MODEL OF ALCOHOL-INDUCED ORGAN DISEASE. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 40(8), 1671–1678. <https://doi.org/10.1111/acer.13133>
- Murrough, J. W., Abdallah, C. G., & Mathew, S. J. (2017). Targeting glutamate signalling in depression: Progress and prospects. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 16(7), 472–486. <https://doi.org/10.1038/nrd.2017.16>

- Neumann, I. D., & Landgraf, R. (2012). Balance of brain oxytocin and vasopressin: Implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends in Neurosciences*, *35*(11), 649–659. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2012.08.004>
- O'Donnell, R., Richardson, B., Fuller-Tyszkiewicz, M., Likhaitzky, P., Arulkadacham, L., Dvorak, R., & Staiger, P. K. (2019). Ecological momentary assessment of drinking in young adults: An investigation into social context, affect and motives. *Addictive Behaviors*, *98*, 106019. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2019.06.008>
- Oficialiosios statistikos portalas. (2019). *Alkoholio ir tabako vartojimas ir padariniai 2018 m.* <https://osp.stat.gov.lt/naujienos?articleId=6338911>
- O'Hara, R. E., Armeli, S., Boynton, M. H., & Tennen, H. (2014). Emotional stress-reactivity and positive affect among college students: The role of depression history. *Emotion*, *14*(1), 193–202. <https://doi.org/10.1037/a0034217>
- Padula, A., McGuier, N., Griffin, I., Lopez, M., Becker, H., & Mulholland, P. (2013). Novel anticonvulsants for reducing alcohol consumption: A review of evidence from preclinical rodent drinking models. *OA Alcohol*, *1*(1). <https://doi.org/10.13172/2053-0285-1-1-446>
- Paljärvi, T., Koskenvuo, M., Poikolainen, K., Kauhanen, J., Sillanmäki, L., & Mäkelä, P. (2009). Binge drinking and depressive symptoms: A 5-year population-based cohort study. *Addiction*, *104*(7), 1168–1178. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2009.02577.x>
- Paparrigopoulos, T., Tzavellas, E., Karaiskos, D., Kourlaba, G., & Liappas, I. (2011). Treatment of alcohol dependence with low-dose topiramate: An open-label controlled study. *BMC Psychiatry*, *11*(1), 41. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-11-41>
- Park, S. Y., Oh, M. K., Lee, B. S., Kim, H. G., Lee, W. J., Lee, J. H., ... & Kim, J. Y. (2015). The effects of alcohol on quality of sleep. *Korean journal of family medicine*, *36*(6), 294.
- Pavkovic, B., Zaric, M., Markovic, M., Klacar, M., Huljic, A., & Caricic, A. (2018). Double screening for dual disorder, alcoholism and depression. *Psychiatry Research*, *270*, 483–489. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2018.10.013>
- Plosker, G. L. (2015). Acamprosate: A Review of Its Use in Alcohol Dependence. *Drugs*, *75*(11), 1255–1268. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0423-9>
- Pratkanis, A. R. (2011). *The Science of Social Influence: Advances and Future Progress*. Psychology Press
- Regev, L., & Baram, T. Z. (2014). Corticotropin releasing factor in neuroplasticity. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *35*(2), 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2013.10.001>

- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2003). Addiction. *Annual Review of Psychology*, *54*, 25–53. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.54.101601.145237>
- Roehrs, T., & Roth, T. (2001). Sleep, sleepiness, and alcohol use. *Alcohol Research & Health*, *25*(2), 101
- Rosenwasser, A. M., & Turek, F. W. (2015). Neurobiology of Circadian Rhythm Regulation. *Sleep Medicine Clinics*, *10*(4), 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2015.08.003>
- Rösner, S., Hackl-Herrwerth, A., Leucht, S., Vecchi, S., Srisurapanont, M., & Soyka, M. (2010). Opioid antagonists for alcohol dependence. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *12*, CD001867. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001867.pub2>
- Rubio, G., López-Muñoz, F., & Alamo, C. (2006). Effects of lamotrigine in patients with bipolar disorder and alcohol dependence. *Bipolar Disorders*, *8*(3), 289–293. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2006.00292.x>
- Sanchis-Segura, C., & Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: An overview. *Addiction Biology*, *11*(1), 2–38. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2006.00012.x>
- Savelyev, S. A., Rantamäki, T., Rytönen, K.-M., Castren, E., & Porkka-Heiskanen, T. (2012). Sleep homeostasis and depression: Studies with the rat clomipramine model of depression. *Neuroscience*, *212*, 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.029>
- Schuster, R., Winkler, M., Koopmann, A., Bach, P., Hoffmann, S., Reinhard, I., Spanagel, R., Bumb, J. M., Sommer, W. H., & Kiefer, F. (2021). Calcium Carbonate Attenuates Withdrawal and Reduces Craving: A Randomized Controlled Trial in Alcohol-Dependent Patients. *European Addiction Research*, 1–9. <https://doi.org/10.1159/000512763>
- Seo, D., & Sinha, R. (2014). The neurobiology of alcohol craving and relapse. *Handbook of Clinical Neurology*, *125*, 355–368. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00021-5>
- Sihvola, E., Rose, R. J., Dick, D. M., Pulkkinen, L., Marttunen, M., & Kaprio, J. (2008). Early-onset depressive disorders predict the use of addictive substances in adolescence: A prospective study of adolescent Finnish twins. *Addiction*, *103*(12), 2045–2053. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2008.02363.x>
- Simms, J. A., Steensland, P., Medina, B., Abernathy, K. E., Chandler, L. J., Wise, R., & Bartlett, S. E. (2008). Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *32*(10), 1816–1823. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00753.x>

- Smith, A. S., & Wang, Z. (2014). Hypothalamic Oxytocin Mediates Social Buffering of the Stress Response. *Biological Psychiatry*, 76(4), 281–288. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.09.017>
- Smith, D., Oei, T. P. S., Ng, K. T., & Armstrong, S. (1980). Rat self administration of ethanol: Enhancement by darkness and exogenous melatonin. *Physiology & Behavior*, 25(3), 449–455. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(80\)90287-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(80)90287-5)
- Solmi, M., Veronese, N., Zaninotto, L., van der Loos, M. L. M., Gao, K., Schaffer, A., Reis, C., Normann, C., Anghelescu, I.-G., & Correll, C. U. (2016). Lamotrigine compared to placebo and other agents with antidepressant activity in patients with unipolar and bipolar depression: A comprehensive meta-analysis of efficacy and safety outcomes in short-term trials. *CNS Spectrums*, 21(5), 403–418. <https://doi.org/10.1017/S1092852916000523>
- Soyka, M., & Müller, C. A. (2017). Pharmacotherapy of alcoholism—An update on approved and off-label medications. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 18(12), 1187–1199. <https://doi.org/10.1080/14656566.2017.1349098>
- Spanagel, Rainer. (2017). Animal models of addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(3), 247–258.
- Tabakoff, B., & Hoffman, P. L. (2013). The neurobiology of alcohol consumption and alcoholism: An integrative history. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 113, 20–37. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.009>
- Thakkar, M. M., Sharma, R., & Sahota, P. (2015). Alcohol disrupts sleep homeostasis. *Alcohol*, 49(4), 299–310
- TLK-10-AM / ACHI / ACS elektroninis vadovas*. (n.d.). Retrieved May 25, 2020, from <http://ebook.vlk.lt/e.vadovas/index.jsp>
- Tomalski, P., & Johnson, M. H. (2010). The effects of early adversity on the adult and developing brain. *Current Opinion in Psychiatry*, 23(3), 233–238. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3283387a8c>
- Tomie, A., Gittleman, J., Dranoff, E., & Pohorecky, L. A. (2005). Social interaction opportunity and intermittent presentations of ethanol sipper tube induce ethanol drinking in rats. *Alcohol*, 35(1), 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2004.11.005>
- Tomie, A., Lewis, K., Curiotto, J., & Pohorecky, L. A. (2007). Intermittent exposure to a social stimulus enhances ethanol drinking in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(3), 341–348. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.05.008>

- Van Reen, E., Roane, B. M., Barker, D. H., McGeary, J. E., Borsari, B., & Carskadon, M. A. (2016). Current Alcohol Use is Associated with Sleep Patterns in First-Year College Students. *Sleep*, *39*(6), 1321–1326. <https://doi.org/10.5665/sleep.5862>
- Vendruscolo, L. F., & Roberts, A. J. (2014). Operant alcohol self-administration in dependent rats: Focus on the vapor model. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *48*(3), 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.08.006>
- Vengeliene, V., Bilbao, A., Molander, A., & Spanagel, R. (2008). Neuropharmacology of alcohol addiction. *British Journal of Pharmacology*, *154*(2), 299–315. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.30>
- Vengeliene, Valentina, Celerier, E., Chaskiel, L., Penzo, F., & Spanagel, R. (2009). RESEARCH FOCUS ON COMPULSIVE BEHAVIOUR IN ANIMALS: Compulsive alcohol drinking in rodents. *Addiction Biology*, *14*(4), 384–396. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2009.00177.x>
- Vengeliene, Valentina, Heidbreder, C. A., & Spanagel, R. (2007). The effects of lamotrigine on alcohol seeking and relapse. *Neuropharmacology*, *53*(8), 951–957. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.09.006>
- Vengeliene, Valentina, Noori, H. R., & Spanagel, R. (2013). The use of a novel drinkometer system for assessing pharmacological treatment effects on ethanol consumption in rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *37 Suppl 1*, E322-328. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01874.x>
- Vengeliene, Valentina, Noori, H. R., & Spanagel, R. (2015). Activation of Melatonin Receptors Reduces Relapse-Like Alcohol Consumption. *Neuropsychopharmacology*, *40*(13), 2897–2906. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.143>
- Vengeliene, Valentina, Siegmund, S., Singer, M. V., Sinclair, J. D., Li, T.-K., & Spanagel, R. (2003). A Comparative Study on Alcohol-Preferring Rat Lines: Effects of Deprivation and Stress Phases on Voluntary Alcohol Intake. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *27*(7), 1048–1054. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000075829.81211.0C>
- Votaw, V. R., Witkiewitz, K., Valeri, L., Bogunovic, O., & McHugh, R. K. (2019). Nonmedical prescription sedative/tranquilizer use in alcohol and opioid use disorders. *Addictive Behaviors*, *88*, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2018.08.010>
- Walker, W. H., Walton, J. C., DeVries, A. C., & Nelson, R. J. (2020). Circadian rhythm disruption and mental health. *Translational Psychiatry*, *10*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0694-0>

- Wang, J. C., Hinrichs, A. L., Stock, H., Budde, J., Allen, R., Bertelsen, S., Kwon, J. M., Wu, W., Dick, D. M., Rice, J., Jones, K., Nurnberger, J. I., Jr, Tischfield, J., Porjesz, B., Edenberg, H. J., Hesselbrock, V., Crowe, R., Schuckit, M., Begleiter, H., ... Bierut, L. J. (2004). Evidence of common and specific genetic effects: Association of the muscarinic acetylcholine receptor M2 ( CHRM2 ) gene with alcohol dependence and major depressive syndrome. *Human Molecular Genetics*, *13*(17), 1903–1911. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddh194>
- Wang, Y.-Q., Li, R., Zhang, M.-Q., Zhang, Z., Qu, W.-M., & Huang, Z.-L. (2015). The Neurobiological Mechanisms and Treatments of REM Sleep Disturbances in Depression. *Current Neuropharmacology*, *13*(4), 543–553
- Waters, K. R., & Easton, N. (1999). Individualized care: Is it possible to plan and carry out? *Journal of Advanced Nursing*, *29*(1), 79–87. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2648.1999.00870.x>
- White, W. L., & Kurtz, E. (2008). Twelve defining moments in the history of alcoholics anonymous. *Recent Developments in Alcoholism: An Official Publication of the American Medical Society on Alcoholism, the Research Society on Alcoholism, and the National Council on Alcoholism*, *18*, 37–57. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-77725-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-0-387-77725-2_3)
- WHO | *Global status report on alcohol and health 2018*. (n.d.). WHO. Retrieved November 20, 2019, from [http://www.who.int/substance\\_abuse/publications/global\\_alcohol\\_report/en/](http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/en/)
- Wiers, C. E., & Heinz, A. (2015). Neurobiology of alcohol craving and relapse prediction: Implications for diagnosis and treatment. In *The Wiley handbook on the cognitive neuroscience of addiction* (pp. 219–239). Wiley-Blackwell.
- Wilcox, H. C., Conner, K. R., & Caine, E. D. (2004). Association of alcohol and drug use disorders and completed suicide: An empirical review of cohort studies. *Drug and Alcohol Dependence*, *76*, S11–S19. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2004.08.003>
- Wise, R. A. (1973). Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia*, *29*(3), 203–210. <https://doi.org/10.1007/BF00414034>
- Witkiewitz, K., Litten, R. Z., & Leggio, L. (2019). Advances in the science and treatment of alcohol use disorder. *Science Advances*, *5*(9), eaax4043. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax4043>
- Wu, Y.-H., & Swaab, D. F. (2005). The human pineal gland and melatonin in aging and Alzheimer's disease. *Journal of Pineal Research*, *38*(3), 145–152. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00196.x>

- Yavari, P., Vogel, G. W., & Neill, D. B. (1993). Decreased raphe unit activity in a rat model of endogenous depression. *Brain Research*, *611*(1), 31–36. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91773-L](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91773-L)
- Zavodnick, A. D., & Ali, R. (2012). Lamotrigine in the treatment of unipolar depression with and without comorbidities: A literature review. *The Psychiatric Quarterly*, *83*(3), 371–383. <https://doi.org/10.1007/s11126-012-9208-4>
- Zawilska, J. B., Skene, D. J., & Arendt, J. (2009). Physiology and pharmacology of melatonin in relation to biological rhythms. *Pharmacological Reports*, *61*(3), 383–410. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(09\)70081-7](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(09)70081-7)
- Zilberman, N., Yadid, G., Efrati, Y., Neumark, Y., & Rassevsky, Y. (2018). Personality profiles of substance and behavioral addictions. *Addictive Behaviors*, *82*, 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2018.03.007>
- Willner P. (2016). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of stress*, *6*, 78–93.