

VILNIAUS UNIVERSITETAS

Redas

DULINSKAS

Ūmaus ir ilgalaikio alkoholio  
vartojimo ir abstinencijos poveikis  
žiurkės regos sukeltiniams  
potencialams: ON/OFF atsakų  
analizė

**DAKTARO DISERTACIJOS SANTRAUKA**

Gamtos mokslai,  
biofizika (N 011)

---

VILNIUS 2020

Disertacija rengta 2015-2020 metais Gyvybės mokslų centre, Vilniaus universitete.

Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba.

Mokslinis vadovas:

**Prof. dr. Osvaldas Rukšėnas** (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biofizika – N 011).

Gynimo taryba:

Pirmininkas:

Prof. dr. Aidas Alaburda (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biofizika – N 011).

Nariai:

Prof. dr. Aleksandr Bulatov (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, gamtos mokslai, biofizika – N 011),

Doc. dr. Kąstytis Dapšys (Respublikinė Vilniaus psichiatriinė ligoninė, gamtos mokslai, biofizika – N 011),

Doc. dr. Giedrius Kalesnykas (Tampere universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001),

Doc. dr. Vilma Kisnierienė (Vilniaus universitetas, gamtos mokslai, biofizika – N 011).

Disertacija bus ginama viešame tarybos posėdyje 2020 m. liepos 13 d. 11 val. Vilniaus universiteto Gyvybės mokslų, centro R401 auditorijoje. Adresas: Saulėtekio al. 7, LT-10257 Vilnius, Lietuva.

Disertacija galima peržiūrėti Vilniaus universiteto bibliotekoje ir VU interneto svetainėje adresu: [www.vu.lt/lt/naujienos/ivikiu-kalendorius](http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivikiu-kalendorius)

VILNIUS UNIVERSITY

Redas

DULINSKAS

Effect of acute and chronic alcohol  
consumption and withdrawal on rat  
visual evoked potentials: focus on  
ON/OFF responses

**SUMMARY OF DOCTORAL DISSERTATION**

Natural Sciences,  
Biophysics (N 011)

---

VILNIUS 2020

Doctoral dissertation was prepared from 2015 to 2020 at the Life Sciences Center, Vilnius University, Lithuania. The research was supported by Research Council of Lithuania.

Academic supervisor:

**Prof. dr. Osvaldas Ruksenas** (Vilnius University, Natural Sciences, biophysics – N 011).

Dissertation will be defended at the public hearing before the defense committee.

Chairman:

Prof. dr. Aidan Alaburda (Vilnius University, Natural Sciences, biophysics – N 011).

Members:

Prof. dr. Aleksandr Bulatov (Lithuanian University of Health Sciences, Natural Sciences, biophysics – N 011)

Doc. dr. Kęstytis Dapšys (Republican Vilnius Psychiatric Hospital, Natural Sciences, biophysics – N 011)

Doc. dr. Giedrius Kalesnykas (Tampere University, Medicine and Health Sciences, medicine – M 001)

Doc. dr. Vilma Kisnierienė (Vilnius University, Natural Sciences, biophysics – N 011)

The thesis defense will take place at the public defense hearing at Life Science Center, Vilnius University (auditorium R401, Sauletekio 7, LT-10257, Vilnius, Lithuania) at 11:00 p.m. on the 13th of July, 2020.

The text of this dissertation can be accessed at the library of Vilnius University, as well as on the website of Vilnius University: [www.vu.lt/lt/naujienos/ivikiu-kalendorius](http://www.vu.lt/lt/naujienos/ivikiu-kalendorius)

## Autorinės teisės

Šioje disertacijoje panaudotas disertacijos autoriaus su bendraautoriais publikuotų straipsnių tekstas ir iliustracijos:

1. Dulinskas R, Buisas R, Vengeliene V, Ruksenas O. Effect of ethanol on the visual-evoked potential in rat: dynamics of ON and OFF responses. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. (2017); 77(2):190-197.
2. Redas Dulinskas and Osvaldas Ruksenas. Modulation of responses to visual stimulus onset and offset by chronic alcohol consumption and withdrawal in the rat visual cortex and lateral geniculate nucleus. *Alcohol* (2020), 85: 101-110,

Žurnalų *Acta Neurobiologiae Experimentalis* ir *Alcohol* leidėjai leidžia autoriaus anksčiau publikuotus straipsnius naudoti autoriaus disertacijoje.

## Turinys

|   |    |
|---|----|
| Santrumpos .....  | 8  |
| 1. Įvadas.....  | 9  |
| 1.1. Darbo tikslas .....  | 11 |
| 1.2. Darbo uždaviniai .....   | 12 |
| 1.3. Mokslinis naujumas.....  | 12 |
| 1.4. Ginamieji teiginiai .....  | 13 |
| 2. Metodai.....   | 14 |
| 2.1 Eksperimentas 1: Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis<br>žiurkės regos žievės atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą.....   | 14 |
| 2.1.1 Gyvūnai .....   | 14 |
| 2.1.2 Elektrodo implantavimas .....   | 14 |
| 2.1.3 RSP registravimas.....  | 15 |
| 2.1.4 Duomenų analizė .....   | 16 |
| 2.2 Eksperimentas 2: Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir<br>abstinencijos poveikis atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą<br>žiurkės regos žievėje ir šoniniame keliniam kūne ..... | 18 |
| 2.2.1 Gyvūnai .....   | 18 |
| 2.2.2 Elektrodo implantacija.....   | 18 |
| 2.2.3 Etanolio vartojimas.....  | 19 |
| 2.2.4 RSP registravimas.....  | 19 |
| 2.2.5 Duomenų analizė .....   | 20 |
| 3. Rezultatai.....  | 23 |
| 3.1 Eksperimentas 1: Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis<br>žiurkės regos žievės atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą.....   | 23 |
| 3.1.1 Latencija .....   | 23 |
| 3.1.2 Amplitudė .....   | 25 |

|  |   |    |
|--|---|----|
| 3.2  | Eksperimentas 2: Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą žiurkės regos žievėje ir šoniniame keliniam kūne ..... | 27 |
| 3.2.1  | Ilgalaikio alkoholio vartojimo poveikis.....  | 32 |
| 3.2.2  | Abstinencijos poveikis.....   | 33 |
| 3.2.3  | Skirtumai tarp ON ir OFF atsakų .....   | 33 |
| 4.   | Diskusija.....  | 36 |
| 4.1  | Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis.....   | 36 |
| 4.2  | Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis ....   | 40 |
| 4.3  | Stimulo įjungimo – išjungimo asimetrija .....   | 41 |
| 5.   | Išvados.....  | 46 |
| 6.   | Literatūros sąrašas .....   | 47 |
| Publikacijos .....                             |   | 58 |
| Publikacijos disertacijos tema: .....          |   | 58 |
| Konferencijų pranešimai disertacijos tema..... |   | 58 |
| Padėka .....                                   |   | 60 |
| Redas Dulinskas   Gyvenimo aprašymas.....      |   | 61 |

## Santrumpos

|       |   |
|-------|---|
| AMPA  | $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoksazolepropioninė rūgštis |
| ANOVA | dispersinė analizė (angl. <i>analysis of variance</i> )           |
| BSP   | šviesos blyksnio sukelti potencialai                              |
| GABA  | gamma-aminobutirinė rūgštis                                       |
| IP    | injekcija po pilvaplėve (angl. <i>intraperitoneal</i> )           |
| mGluR | metabotropiniai glutamato receptoriai                             |
| NMDA  | N-methyl-D-aspartato rūgštis                                      |
| ON    | stimulo įjungimas   |
| OFF   | stimulo išjungimas  |
| RSP   | regos sukeltiniai potencialai                                     |
| RŽ    | regos žievės  |
| SC    | poodinė injekcija (angl. <i>subcutaneous</i> )                    |
| ŠKK   | šoninis kelinis kūnas   |



## 1. Įvadas

Etanolis yra viena dažniausiai vartojamų narkotinių medžiagų pasaulyje, kuri paveikia informacijos apdorojimą, kognityvines funkcijas ir elgesį, dėl to padidėja su alkoholiu susijusių nelaimingų atsitikimų rizika. Etanolis daro didelę įtaką centrinės nervų sistemos veiklai, nes ši molekulė neturi vienintelio aiškaus poveikio konkrečiai neurotransmiterių sistemai – ji gali paveikti daugelio neurotransmisijos kaskados etapų įvairiose neurotransmiterių sistemose. Be to, alkoholio poveikis priklauso nuo jo vartojimo trukmės. Ūmus alkoholio vartojimas paveikdamas įvairius neuronų elementus, pvz. receptorius, sutrikdo neurotransdukcijos procesus (Vengeliene et al. 2008; Little 1999) ir sensorinės informacijos apdorojimą (Kenemans et al. 2010; Kunchulia et al. 2012; Skalka et al. 1986; Maurage et al. 2012; Chen et al. 2010; Johnston & Timney 2008; Yu et al. 2006; Donnelly & Miller 1995; Zhuang et al. 2012). Tuo tarpu ilgalaikis alkoholio vartojimas sukelia neuronų žūtį, ilgalaikius anatominius smegenų pokyčius (Rintala et al. 1997; Thomas et al. 1998; Lukoyanov et al. 2000; Pfefferbaum et al. 1997; Crews 2006) ir smegenų plastiškumą (Gutierrez & Heinemann 1999; Steward et al. 1990; Tenkova 2003; Lukoyanov et al. 2000; Pinazo-Duran & Strömland 1994; Medina & Krahe 2008; Medina & Ramoa 2005), kurie iššaukia abstinencijos simptomus ir sukelia priklausomybę.

Regos sistema yra viena jautriausių alkoholiui sensorinių sistemų. Ūmaus alkoholio vartojimas skirtingose regos sistemos lygiuose paveikia tokias funkcijas kaip: erdvinio dažnio atskyrimą (Watten et al. 1998), gylio suvokimą (Hill & Toffolon 1990), regėjimo aštrumą (Wilson & Mitchell 1983), dinaminį regėjo aštrumą (Brown et al. 1975), kontrasto jautrumą (Donnelly & Miller 1995; Pearson & Timney 1999), naktinio matymo jautrumą (Castro et al. 2014), šoninį slopinimą (Johnston & Timney 2008) ir informacijos apdorojimą (Tzambazis & Stough 2000). Ilgalaikis alkoholio vartojimas sukelia neuronų mirtį tinklainėje (Johnsen-Soriano et al. 2007; Sancho-Tello et

al. 2008), optiniame nerve (Johnsen-Soriano et al. 2007), šoniniame keliniame kūne (ŠKK) (Carmona et al. 1994), regos žievėje (RŽ) (Tenkova et al. 2003) ir yra susijęs su įvairiais sutrikimais bei sensorinės informacijos apdorojimo moduliacija skirtingose regos sistemos lygiuose. Nors ankstesni tyrimai parodė, kad tinklainės ir regos žievės lygiuose ūmus ir ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija turi skirtingą poveikį skirtingoms regimosios informacijos apdorojimo stadijoms, tačiau vis dar yra neatsakytų klausimų. Pirma, nėra informacijos apie ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį ŠKK funkcijoms. ŠKK yra branduolys, kuris perduoda informaciją iš tinklainės į regos žievę. Taip pat šis branduolys yra stipriai moduluojamas nusileidžiančių projekcijų iš regos žievės (Wang et al. 2018). Taigi, RŽ ir ŠKK moduluoja vienas kito atsakus. Norint suprasti alkoholio veikimo mechanizmus regos sistemoje svarbu suprasti kaip alkoholis paveikia kiekvieną regos sistemos lygį.. Antra problema yra tyrimų laikinis aspektas. Chroninio alkoholio vartojimo ar abstinencijos tyrimuose alkoholio vartojimo ir/ar abstinencijos laikas yra santykinai trumpas – iki vieno mėnesio alkoholio vartojimo (Bierley et al. 1980) ir iki dviejų savaičių abstinencijos (Sokomba & Osuide 1985). Todėl vis dar likęs klausimas kaip ilgalaikis alkoholio vartojimas (ilgiau nei 1 mėnesį) ir abstinencija (daugiau nei dvi savaites) paveikia regos sistemos funkcijas.

Vienas iš metodų naudojamas norint įvertinti biologiškai aktyvių medžiagų poveikį regos sistemos funkcijoms yra regos sukeltiniai potencialai (RSP). RSP yra puikus įrankis su gera laikine skiriamąja geba ir yra plačiai naudojamas tiriant regos sistemos funkcionalumą ir patologijas įvairiuose regos sistemos lygiuose, kadangi individualios RSP komponentės atspindi neuroninius kelius, kurie yra aktyvuojami stimulo. Regos sukeltiniai potencialiai leidžia tyrėjams atskirti ir iširti skirtingas informacijos apdorojimo stadijas (Hetzler & Bauer 2013; Fisch & Spehlmann 1999).

Stimulo įjungimo ir išjungimo t.y. stimulo trukmės suvokimas yra viena fundamentalių laikinės informacijos apdorojimo funkcijų.

Reakcijos laikas, kuris susideda iš sensorinio (stimulo priėmimo), centrinio (sprendimų formavimas) ir motorinio (sprendimo įgyvendinimo) etapų (Posner 2005; Nicolas 1997), yra trumpesnis į stimulo įjungimą nei išjungimą (Di Lollo et al. 2000). Detalesni tyrimai parodė, kad ilgas stimulus (500 ms ar ilgesnis) sukelia du pilnai atsiskyrusius smegenų atsakus į stimulo įjungimą (ON atsakas) ir išjungimą (OFF atsakas). Šis fenomenas matomas keliose sensorinėse sistemose: regos (Bair et al. 2002; Wilson 1983), klausos (Hari et al. 1987; Qin et al. 2007; Yamashiro et al. 2009; Baba et al. 2016) ir somatosensorikos (Spackman *et al.* 2006; Yamashiro *et al.* 2008). Taip pat šie tyrimai atskleidė atsakų į stimulo įjungimą ir išjungimą skirtumus skirtinguose modalumuose ir skirtingose informacijos apdorojimo stadijose. Tai rodo, kad stimulo įjungimo ir išjungimo apdorojimas gali būti paremtas skirtingais neuroniniais mechanizmais, dėl to, šie atsakai gali būti skirtingai moduluojami biologiškai aktyvių medžiagų. Neteisingas informacijos apdorojimas viename iš šių atsakų gali paveikti reakcijos laiką ir būti kritiškai svarbus išgyvenimui. Regos sistemoje vis dar nėra aiški ON ir OFF atsakų kilmė, ir kuri smegenų struktūra ir informacijos apdorojimo stadija atsakinga už skirtumus ON ir OFF atsakuose. Nors ankstesni tyrimai parodė, kad ūmus ir ilgalaikis alkoholio vartojimas sumažina šviesos blyksnio sukkelto regimojo atsako amplitudę ir padidina latenciją, o abstinencija sukelia regos sistemos hiperaktyvumą, vis dar neaišku kaip alkoholio vartojimas paveikia vizualinės informacijos laikinį aspektą t.y. atsakus į stimulą įjungimą ir išjungimą. Sutrikdytas informacijos, apie stimulo įjungimą ir išjungimą, apdorojimas gali sukelti neteisingą stimulo parametrų įvertinimą ir net įtakoti reakcijos laiką.

### 1.1. Darbo tikslas

Ištirti ūmaus ir ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį žiurkės regos žievės ir šoninio kelinio kūno atsakams į regimojo stimulo įjungimą ir išjungimą.

## 1.2. Darbo uždaviniai

- Įvertinti ON ir OFF atsakų latencijų ir amplitudžių asimetriją alkoholio nevarojusių žiurkių regos žievėje ir šoniniame keline; keline;
- Ištirti ūmaus alkoholio vartojimo poveikį ON ir OFF atsakams žiurkės regos žievėje;
- Ištirti ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį ON ir OFF atsakams žiurkės regos žievėje;
- Ištirti ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį ON ir OFF atsakams žiurkės šoniniame keline.

## 1.3. Mokslinis naujumas

Abi šio tyrimo dalys yra skirtos ištirti regos sistemos laikinės informacijos apdorojimą ir alkoholio poveikį tos informacijos apdorojimui. Mes pirmą kartą tyrėme regos sistemoje atskirtus atsakus, sukeltus stimulo įjungimo ir išjungimo, ir parodėme, kad neuronų populiacijos lygyje regos sistemos aktyvacija stimulo įjungimo metu skiriasi nuo aktyvacijos stimulo išjungimo metu. Skirtumai tarp šių atsakų yra pastebimi žievės lygyje anestezuotuose ir budriuose gyvūnuose ir yra skirtingai moduluojami alkoholio.

Mes parodėme, kad skirtingos laikinės informacijos apdorojimo stadijos regos sistemoje yra skirtingai moduluojamos ūmaus ir chroninio alkoholio vartojimo ir abstinencijos.

Pirma tyrimo dalis atskleidė, kad tik anestezija arba kartu su alkoholiu turi stipresnį poveikį atsakui į stimulo įjungimą nei į išjungimą. Regos žievės lygyje sevoflurano anestezija panašiai padidina tiek ON, tiek OFF atsakų latenciją. Vienintelė išimtis yra paskutinė stimulo apdorojimo stadija: OFF atsako N2 komponentės latencija išlieka nepaveikta alkoholio, tačiau etanolis sumažina amplitudę.

Antroji tyrimo dalis parodė, kad budrioms, laisvai judančioms žiurkėms ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija turi stiprų, ilgalaikį, o kartais negrįžtamą poveikį informacijos apdorojimui. Tiek alkoholio vartojimo, tiek abstinencijos etapai paveikia tik paskutines informacijos, apie stimulo įjungimą, apdorojimo stadijas regos žievės lygyje, bet nepaveikia šoninio kelinio kūno. Tuo tarpu atsakas į stimulo išjungimą yra jautresnis alkoholio vartojimo ir/ar abstinencijos poveikiui ir yra moduluojamas regos žievės ir šoninio kelinio kūno lygiuose.

Kartu šie atradimai rodo, kad alkoholis moduluoja skirtingas informacijos apdorojimo grandinės dalis, o tai gali vesti prie klaidingo regimojo stimulo parametrų įvertinimo ir sukelti pokyčius stimulo trukmės ir intensyvumo suvokime.

#### 1.4. Ginamieji teiginiai

1. Regos žievės sukeltinių potencialų (atsakų) sukeltų stimulo įjungimo amplitudė yra didesnė, o latencija mažesnė nei atsakų sukeltų stimulo išjungimo.
2. Biologiškai aktyvios medžiagos (etanolis ir/ar sevofluranas) skirtingai moduluoja regos žievės atsakus į regimojo stimulo įjungimą ir išjungimą.
3. Ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija moduluoja atsaką į stimulo įjungimą regos žievės, bet ne šoninio kelinio kūno lygiuose.
4. Ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija moduluoja atsaką į stimulo išjungimą regos žievės ir šoninio kelinio kūno lygiuose.
5. Atsakas į stimulo išjungimą yra jautresnis ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikiui nei atsakas į stimulo įjungimą.

## 2. Metodai

Siekiant įgyvendinti užsibrėžtus tikslus buvo atlikti du eksperimentai. Pirmojo eksperimento tikslas buvo ištirti ūmaus alkoholio vartojimo poveikį atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą regos žievės lygyje.

Antrasis eksperimentas buvo skirtas ištirti ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą regos žievės ir šoninio kelinio kūno lygiuose.

### 2.1 Eksperimentas 1: Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis žiurkės regos žievės atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą

#### 2.1.1 Gyvūnai

Eksperimentas 1 buvo atliktas su dešimt dviejų mėnesių amžiaus Wistar linijos žiurkių patinų (iš Vilniaus universiteto vivariumo). Visi gyvūnai buvo laikomi individualiuose, standartinio dydžio žiurkių narvuose su 12/12 valandų dirbtinio apšvietimo šviesos/tamsos ciklu (šviesa įjungiamą 7:00). Buvo palaikoma pastovi kambario temperatūra (temperatūra:  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Standartinis žiurkių maistas (4RF21-GLP, Mucedola srl, Milanas, Italija) ir šviežias vanduo buvo neribotai prieinami viso eksperimento metu. Visos eksperimente atliktos procedūros buvo patvirtintos Lietuvos Respublikos Maisto ir Veterinarijos Tarnybos.

#### 2.1.2 Elektrodo implantavimas

Žiurkės buvo anestezuojamos 5% sevoflurano garais, o visos operacijos metu anestezija buvo palaikoma 3% sevoflurano garais. Registravimo elektrodas (0-80 x 1/8 colių nerūdijančio plieno varžtas) buvo implantuojamas virš regos žievės (koordinatės AP: -7 mm; ML:  $\pm 3$  mm). Įžeminimo ir palyginamasis elektrodai implantuoti virš kaktinės žievės (koordinatės AP: +2 mm, ML:  $\pm 2$  mm). Elektrodo stabilumui ir apsaugai nuo aplinkos palaikyti buvo naudojamas dantų cementas (Prevest DenPro, Jammu, Indija). Naudojant temperatūros

palaikymo aparatą (ATC1000, WPI, Sarasota, JAV) visos operacijos metu buvo palaikoma pastovi 37 °C gyvūno temperatūra. Po operacijos gyvūnui tris dienas vieną kartą per dieną po oda (SC, *angl. subcutaneos*) buvo suleidžiami nuskausminamieji Carprofen (SC, 4 mg/kg, Rycarfa, KRKA, Novo mesto, Slovėnija) ir septynias dienas (kartą per dieną) suleidžiami antibiotikai Enrofloxacin (5 mg/kg, Vetoquinol Biowet, Gorzow Wielkopolski, Lenkija) (Lee-Parritz 2007). Prieš pradėdant regos sukeltinių potencialų registravimą žiurkėms buvo leidžiama dvi savaites pagyti.

### 2.1.3 RSP registravimas

Visi eksperimentai buvo atlikti su 3% sevofluranu anestezuotais gyvūnais. RSP buvo registruojami vieną valandą kiekvienos sąlygos metu: bazinė linija (be injekcijos), 0,9% fiziologinio tirpalo injekcija po pilvaplėve (IP), 2g/kg alkoholio injekcija (IP). Per vieną dieną buvo atliekami bazinės linijos registravimas arba registravimas po fiziologinio tirpalo injekcijos (buvo išdėstyta atsitiktine tvarka) o po vieno iš šių registravimų buvo atliekamas VEP registravimas po alkoholio injekcijos. Sukeltinių potencialų registravimas buvo pradėdamas 2 min po fiziologinio tirpalo/alkoholio injekcijos.

RSP registravimui stimulus buvo pateikiamas per LCD monitorių (SyncMaster P22370, Samsung), kurio atnaujinimo dažnis 2 ms. Monitorius buvo pastatytas prieš akį 20 cm atstumu (stimulus padengė visa gyvūno regos lauką). Siekiant apsaugoti akis nuo išdžiūvimo, akys buvo padengtos permatomu geliu Lacripos (Ursapharm, Saarbrücken, Vokietija) (Geiger et al. 2008, Mostany and Portera-Cailliau, 2008). Regimasis stimulus buvo pateikiamas naudojant programinę įrangą VisStim 1.0. Buvo naudota 500 ms stimulo trukmė, stimulo intensyvumas – 125 cd/m<sup>2</sup>, aplinkos apšvietumas 1 lx, stimuliavimo dažnis 0.25 Hz. RSP registravimas prasidėdavo 100 ms prieš stimulą ir tęsėsi 2900 ms po stimulo įjungimo. Stimulai buvo pateikiami su 3,5 s intervalais. Vienos valandos įrašas buvo suskaidomas į devynis laiko langus po 400 s.

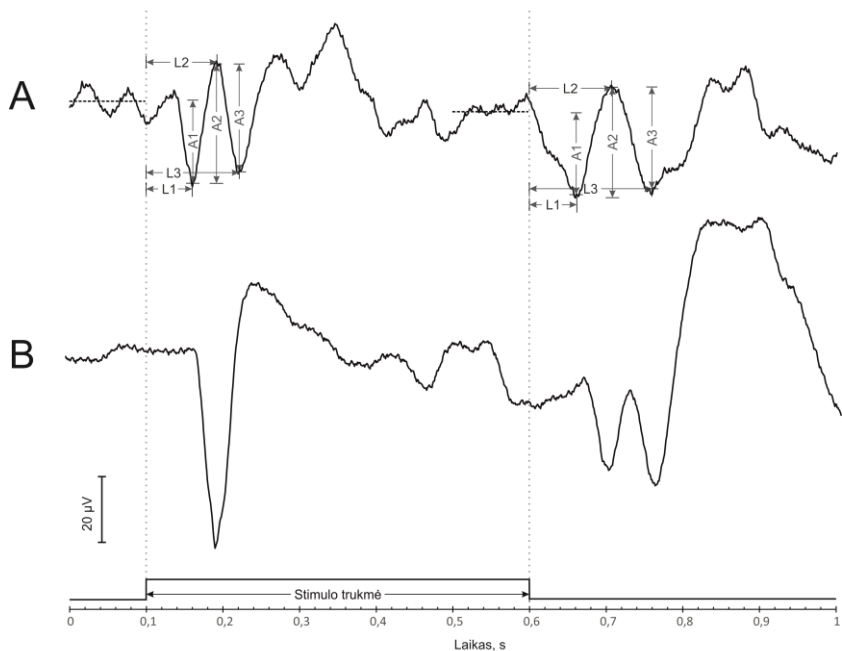
Kiekvienas 400 s laiko langas turėjo atsakus į 100 stimulų. Kiekvieno lango suvidurkinti RSP į 100 stimulų buvo naudojami duomenų analizei.

Duomenys buvo surenkami su duomenų surinkimo moduli (Power 1401, CED, JK) naudojant 1 kHz diskretizavimo dažnį. Sukeltiniai potencialai buvo sustiprinti (stiprinimas x1000) su standartiniu biopotencialų stiprintuvu (Iso-DAM8A, WPI) naudojant aukšto (1 kHz), žemo (1 Hz) ir tinklo (50 Hz) dažnių filtrus. Duomenų analizė buvo atliekama naudojant Signal 5.07 (CED, JK) programinę įrangą.

#### 2.1.4 Duomenų analizė

RSP komponentės buvo pažymėtos pagal jų poliarumą (teigiamas pikas pažymėtas raide P, o neigiamas – N) ir pagal jų eiliškumą nuo stimulo įjungimo ir išjungimo. N1 komponentės (pirmoji stebima komponentė) amplitudė buvo matuojama naudojant bazinę liniją – pikas metodu, kitų komponentių amplitudės matuotos naudojant pikas – pikas metodu. Bazinė linija – pikas amplitudė buvo skaičiuota kaip skirtumas tarp vidutinės 100 ms potencialo prieš stimulo įjungimą/išjungimą vertės ir piko potencialo. Pikas – pikas amplitudė buvo skaičiuota kaip skirtumas tarp dviejų pikų potencialų verčių. (pvz. P2 amplitudė yra P2 ir N1 pikų potencialų skirtumas, Pav. 2.1A). Pikų latencija skaičiuota nuo stimulo įjungimo (t.y. 0 ms) arba išjungimo (i.e., 500 ms), žiūrėti paveiksle 2.1A.





**Pav. 2.1.** Regos suskeltinio potencialo pavyzdys užregistruotas ketvirtame laiko lange po fiziologinio tirpalo (A) ir 2 g/kg alkoholio (B) injekcijų. Rodyklės L1, L2 ir L3 nurodo N1, P2 ir N2 komponentių latencijas, atitinkamai. Rodyklės A1, A2 and A3 nurodo N1, P2 ir N2 komponentių amplitudes, atitinkamai. P1 (A1) komponentės amplitudė buvo matuojama naudojant bazinę linija – pikas metodu, kitų komponentių (A2, A3) amplitudės matuotos naudojant pikas – pikas metodu. Bazinė linija – pikas amplitudė buvo skaičiuota kaip skirtumas tarp vidutinės 100 ms potencialo prieš stimulo įjungimą/išjungimą vertės (horizontali taškuota linija) ir piko potencialo. Pikas – pikas amplitudė buvo skaičiuota kaip skirtumas tarp dviejų pikų potencialų verčių. Pikų latencija skaičiuota nuo stimulo įjungimo arba išjungimo (vertikalios taškuotos linijos).

Shapiro – Wilk testas parodė, kad duomenys buvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. RSP be injekcijos nesiskyrė nuo RSP po fiziologinio tirpalo injekcijos (visoms komponentėms  $P > 0.05$ ). Dėl

šios priežasties siekiant įvertinti etanolio poveikį RSP latencijoms ir amplitudėms atsakai po alkoholio injekcijos buvo lyginami su atsakais po fiziologinio tirpalo injekcijos. Dvikryptė pakartotinių matavimų dispersinė analizė (ANOVA) buvo naudojama analizuojant trijų RSP komponentių (N1, P2 ir N2) amplitudes ir latencijas [faktoriniai: laikas ir injekcija]. Latencijų ir amplitudžių skirtumai tarp ON ir OFF atsakų N1, P2 ir N2 komponentėse esant skirtingoms injekcijoms atlikta naudojant dvikryptę pakartotinių matavimų ANOVA [faktoriniai: laikas ir stimulo tipas (ON prieš OFF)]. Kai buvo rasti statistiškai patikimi skirtumai buvo atliekama post-hoc Student Newman-Keuls testas. Pasirinktas statistinio patikimumo lygis  $P < 0.05$ .

## 2.2 Eksperimentas 2: Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą žiurkės regos žievėje ir šoniniame keliniam kūne

### 2.2.1 Gyvūnai

Eksperimente buvo panaudota aštuoniolika trijų mėnesių amžiaus Wistar linijos žiurkių patinų (iš Vilniaus universiteto vivariumo). Gyvūnų laikymo sąlygos buvo tokios pačios kaip ir pirmojo eksperimento metu. Visos eksperimente atliktos procedūros buvo patvirtintos Lietuvos Respublikos Maisto ir Veterinarijos Tarnybos.

### 2.2.2 Elektrodo implantacija

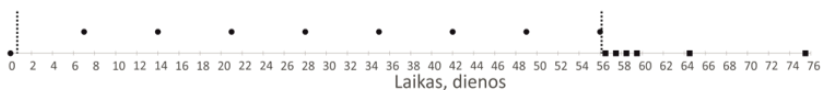
Elektrodo implantacijos procedūra buvo tokia pati kaip ir pirmajame eksperimente, išskyrus vieną papildomą registravimo elektrodą. Šiame tyrime registruojamieji elektrodai buvo implantuoti į dvi sritis: 0–80×1/8 colių nerūdijančio plieno varžtinis elektrodas virš regos žievės (koordinatės AP: -7 mm; ML: +3 mm) ir adatinis volframo vielos mikroelektrodas (aktyvi elektrodo dalis tik 2 μm galiuko) šoniniame keliniam kūne (koordinatės AP: -4.56 mm; ML: -3.7 mm; DV: -4.8mm).

### 2.2.3 Etanolio vartojimas

Žiurkės buvo padalintos į dvi grupes. Viena grupė (alkoholio grupė,  $n = 9$ ) 8 savaites turėjo priėjimą tik prie 10% (v/v) etanolio tirpalo (gėrimo periodas), išskyrus keturias valandas prieš RSP registravimą, kai etanolio tirpalas buvo pakeičiamas vandeniu. Etanolio tirpalas buvo paruošiamas iš 96% etanolio (Vilniaus degtinė, Vilnius, Lietuva) ir vandens iš čiaupo. Po 8 savaitių etanolio tirpalas trims savaitėms buvo pakeistas vandeniu (abstinencijos periodas). Kontrolinė grupė ( $n = 9$ ) turėjo laisvą priėjimą prie vandens tiek gėrimo, tiek abstinencijos periodais. Nei viena gyvūnų grupė eksperimento metu neprarado svorio.

### 2.2.4 RSP registravimas

Elektrofiziologiniai registravimai buvo atliekami vieną kartą per savaitę, pradedant viena diena prieš alkoholio vartojimo pradžią. Kas savaitiniai registravimai tęsėsi 8 savaites, o abstinencijos laikotarpiu atlikti dar 6 kartus: po 12, 36 ir 60 valandų (ūmi abstinencija) ir 4, 9 ir 20 dienų (išėsta abstinencija) po alkoholio pakeitimu vandeniu (Pav. 2.2). Visi registravimai buvo atlikti su budriais, laisvai judančiais gyvūnais. 15 minučių prieš eksperimentą į abi akis buvo įlašinami vyzdžius plečiantys vaistai (Mydriacyl 10 mg/ml, Alcon-Couvreur N.V., Puurs, Belgija) ir žiurkė buvo paliekama tamsoje. Registravimo metu ant gyvūno galvos esanti elektroninė jungtis buvo prijungiama prie biopotencialų stiprintuvo naudojant laisvai besisukančius laidus.



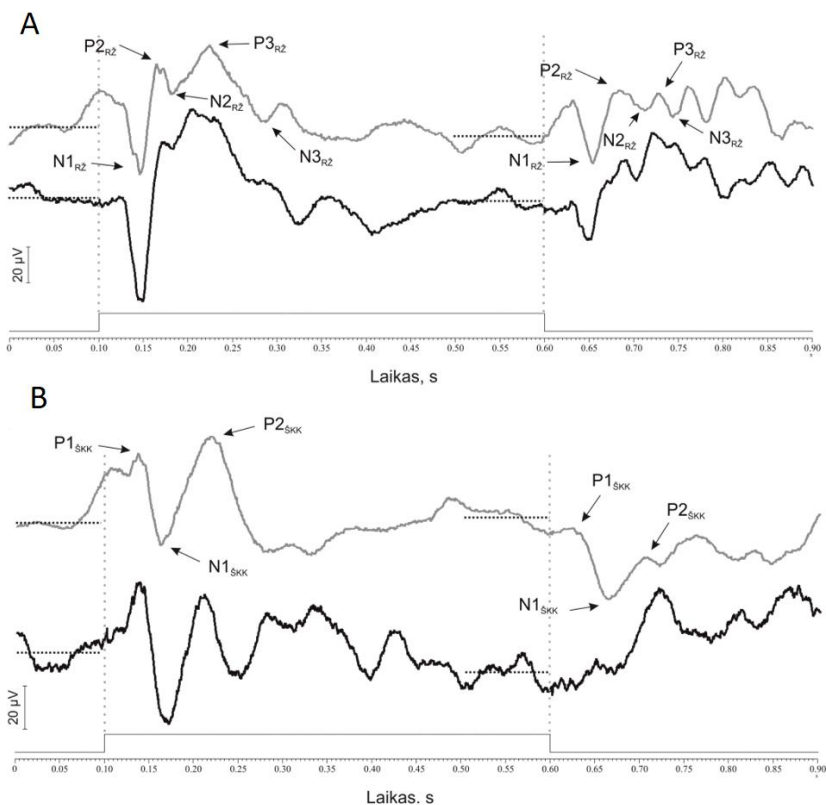
**Pav. 2.2.** Regos sukeltinių potencialų registravimo protokolas. RSP registravimai buvo atliekami vieną kartą per savaitę, pradedant viena diena prieš alkoholio vartojimo pradžią. Kas savaitiniai registravimai tęsėsi 8 savaites, o abstinencijos laikotarpiu atlikti dar 6 kartus: po 12,

36 ir 60 valandų (ūmi abstinencija) ir 4, 9 ir 20 dienų (išėsta abstinencija) po alkoholio pakeitimu vandeniu. Apskritimai ir kvadratai atitinkamai žymi RSP registravimus alkoholio gėrimo ir abstinencijos periodais. Alkoholio vartojimo pradžia ir pabaiga pažymėti vertikalia punktyrine linija. Pakelti juodi apskritimai žymi RSP registravimus, kai gyvūnas vartojo alkoholį.

RSP registravimui narvas su žiurke buvo pastatoma viduryje kvadratinės dėžės, kurios sienos pagamintos iš keturių 50 cm x 30 cm LED plokščių (King 24W, GTV). Stimulas buvo pateikiamas visam regos laukui naudojant šias LED plokštes. Atstumas tarp žiurkės narvo ir LED plokščių buvo 5 cm. Apšvietumas narvo centre (750 lx), kampe (730 lx) ir ties sienos viduriu (750 lx) skyrėsi mažiau nei 5%. Regimasis stimulus buvo kontroliuojamas naudojant Signal 5.07 (CED, UK) programinę įrangą. Stimulo skaistis buvo 70 cd/m<sup>2</sup>, trukmė – 500 ms, aplinkos apšvietumas 0 lx, o stimuliavimo dažnis – 0.25 Hz. RSP registravimas buvo pradedamas 100 ms prieš įsijungiant stimulus ir tęsėsi 2900 ms po stimulus įjungimo. Tarp stimulus buvo 3.5 s laiko tarpas. Duomenų analizei buvo naudojami RSP, gauti suvidurkinus atsakus į 100 stimulus. Elektrofiziologinių duomenų surinkimas buvo toks pats kaip ir pirmajame eksperimente.

### 2.2.5 Duomenų analizė

RSP komponentės buvo pažymėtos pagal jų poliariškumą ir eiliškumą vienas kito atžvilgiu. Indeksai “RŽ” (regos žievė) ir “ŠKK” (šoninis kelinis kūnas) nurodo smegenų struktūrą, kurioje buvo registruotas potencialas. Komponentių amplitudė buvo matuojama naudojant bazinę liniją – pikas metodą: skirtumas tarp vidutinės 100 ms potencialo prieš stimulus įjungimą/išjungimą vertės ir piko potencialo. Piko latencija skaičiuota nuo stimulus įjungimo (t.y. 0 ms) ir išjungimo (i.e., 500 ms), žiūrėti paveiksle 2.3A ir 2.3B.



**Pav. 2.3.** Regos žievės (A) ir šoninio kelnio kūno (B) RSP pavyzdžiai užregistruoti kontroliniuose gyvūnuose (juoda linija) ir alkoholi vartojusiuose gyvūnuose (pilka linija) po 8 savaičių laikotarpio. Rodyklės nurodo RSP komponentes regos žievėje (N1<sub>RŽ</sub>, P2<sub>RŽ</sub>, N2<sub>RŽ</sub>, P3<sub>RŽ</sub>, N3<sub>RŽ</sub>) ir šoniniame kelniniame kūne (P1<sub>ŠKK</sub>, N1<sub>ŠKK</sub>, P2<sub>ŠKK</sub>). Komponentių amplitudės buvo matuotos naudojant bazinę liniją – pikas metoda: potencialo skirtumas tarp vidutinės 100 ms potencialo prieš stimulo įjungimą/išjungimą (horizontalios punktyrinės linijos) vertės ir piko potencialo. Pikų latencijos skaičiuotos nuo stimulo įjungimo ar išjungimo (vertikalios punktyrinės linijos)

Shapiro – Wilk testas parodė, kad duomenys buvo pasiskirstę pagal normalųjį skirstinį. Dvikryptė ANOVA buvo naudojama analizuojant penkių regos žievės RSP komponentų ( $N1_{RŽ}$ ,  $P2_{RŽ}$ ,  $N2_{RŽ}$ ,  $P3_{RŽ}$ ,  $N3_{RŽ}$ ) ir trijų šoninio kelinio kūno RSP komponentų ( $P1_{šKK}$ ,  $N1_{šKK}$ ,  $P2_{šKK}$ ) amplitudes ir latencijas [faktoriai: laikas ir grupė]. ON ir OFF atsakų skirtumų vertinimas atliktas naudojant dvikryptę pakartotinių matavimų ANOVA [faktoriai: laikas ir stimulo tipas (ON prieš OFF)]. Kai buvo rasti statistiškai patikimi skirtumai buvo atliekama post-hoc Student Newman-Keuls testas. Pasirinktas statistinio patikimumo lygis  $P < 0.05$ .

### 3. Rezultatai

#### 3.1 Eksperimentas 1: Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis žiurkės regos žievės atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą

ON ir OFF atsakų skirtumai buvo tiriami analizuojant RSP komponentes po fiziologinio tirpalo ir alkoholio injekcijų (Pav. 2.1, 3.1 ir 3.2).

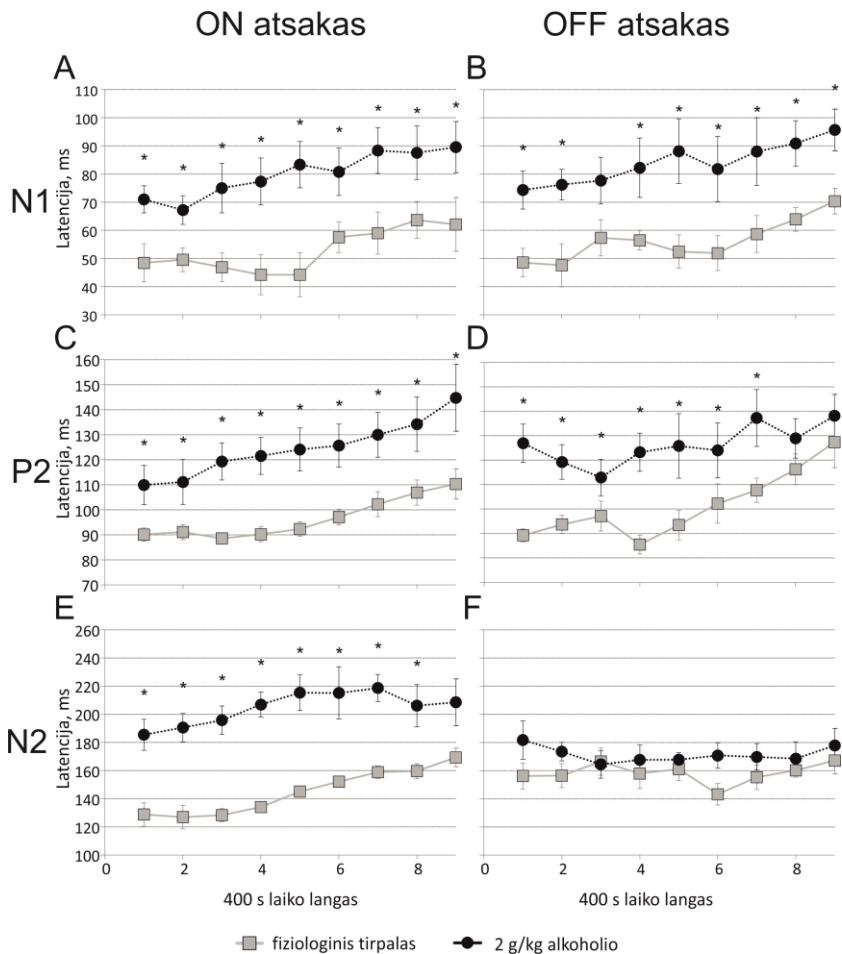
##### 3.1.1 Latencija

Duomenų analizė atskleidė, kad N1 komponentės latencija didėjo valandos laikotarpyje tiek ON (fiziologinis tirpalas: nuo  $48.44 \pm 6.75$  ms iki  $62.11 \pm 9.57$  ms; alkoholis: nuo  $71 \pm 4.8$  ms iki  $89.56 \pm 9.09$  ms faktorius laikas:  $F_{8,242}=7.6$ ,  $P<0.001$ ), tiek OFF (fiziologinis tirpalas: nuo  $48.56 \pm 5.04$  ms iki  $70.33 \pm 4.53$  ms; alkoholis: nuo  $74.33 \pm 6.78$  ms iki  $95.67 \pm 7.41$  ms, faktorius laikas:  $F_{8,242}=3.6$ ,  $P<0.01$ ) atsako atveju (Pav. 3.1A, B).

P2 komponentės latencijos pokyčio dinamika panaši kaip ir N1 komponentės – valandos laikotarpiu latencija didėjo nuo  $90.11 \pm 2.69$  ms iki  $110.33 \pm 6.03$  ms ON ir nuo  $89.22 \pm 2.63$  ms iki  $127.33 \pm 10.44$  ms OFF atsakuose (faktorius laikas: atitinkamai,  $F_{8,242}=15.4$ ,  $P<0.001$  ir  $F_{8,242}=3.8$ ,  $P<0.001$  ON ir OFF atsakams) (Pav. 3.1C, D). O po etanolio injekcijos ON atsako latencija vidutiniškai didėjo nuo  $109.89 \pm 7.84$  ms iki  $144.77 \pm 13.35$  ms, o OFF atsako – nuo  $126.89 \pm 7.81$  ms iki  $138.11 \pm 8.76$  ms.

ON atsako N2 komponentės latencija didėjo po abiejų injekcijų (nuo  $128.78 \pm 8.38$  ms iki  $169 \pm 6.62$  ms po fiziologinio tirpalo ir nuo  $185.44 \pm 11.05$  ms iki  $208.56 \pm 16.55$  ms po alkoholio injekcijų) (faktorius laikas:  $F_{8,242}=9.6$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.1E). Deja, po fiziologinio tirpalo injekcijos visų aukščiau minėtų RSP komponentių latencija didėjo valandos laikotarpyje. Dėl šios priežasties mes negalime įvertinti tiesioginio etanolio poveikio RSP parametrams, kurie kontrolinėmis sąlygomis kito laike.

Kontrolinėmis sąlygomis vienintelė OFF atsako N2 komponentės latencija buvo nepaveikta. Tačiau etanolis taip pat neturėjo jokio poveikio šiai komponentei (Pav. 3.1F).



**Pav. 3.1.** RSP komponenčių N1 (A, B), P2 (C, D), ir N2 (E, F) latencijų (ms) dinamika po fiziologinio tirpalo ar 2 g/kg etanolio injekcijų. Vienos valandos įrašai buvo suskirstyti į devynis laiko langus po 400 s. Kiekviename laiko lange regimasis 500 ms trukmės stimulus buvo



pateikiamas 100 kartų. Komponentių latencija buvo skaičiuojama nuo stimulo įjungimo (A, C, E) ir išjungimo (B, D, F). \* rodo statistiškai patikimus skirtumus tarp fiziologinio tirpalo ir 2 g/kg etanolio injekcijų,  $P < 0.05$ , pasikliautiniai intervalai rodo S.E.M.

ON ir OFF atsakų palyginimas parodė, kad N1 ir P2 komponentių latencijos po stimulo įjungimo ir išjungimo nesiskyrė nei fiziologinio tirpalo nei alkoholio injekcijos atvejais ( $P > 0.05$ ). N2 komponentės latencija po fiziologinio tirpalo injekcijos keitėsi bėgant laikui ir tam tikrais laiko momentais buvo fiksuojama ON/OFF asimetrija (faktorius laikas  $\times$  stimulo tipas:  $F_{2,162} = 3.7$ ,  $P < 0.001$ ). Post hoc analizė parodė, kad pirmaisiais keturiais laiko langais OFF atsako N2 komponentės latencija yra ilgesnė  $29.72 \pm 6.05$  ms nei ON atsake. Tuo tarpu 2 g/kg alkoholio injekcija labiau padidino ON nei OFF atsako latenciją (faktorius laikas  $\times$  stimulo tipas:  $F_{1,162} = 6.0$ ,  $P < 0.05$ ).

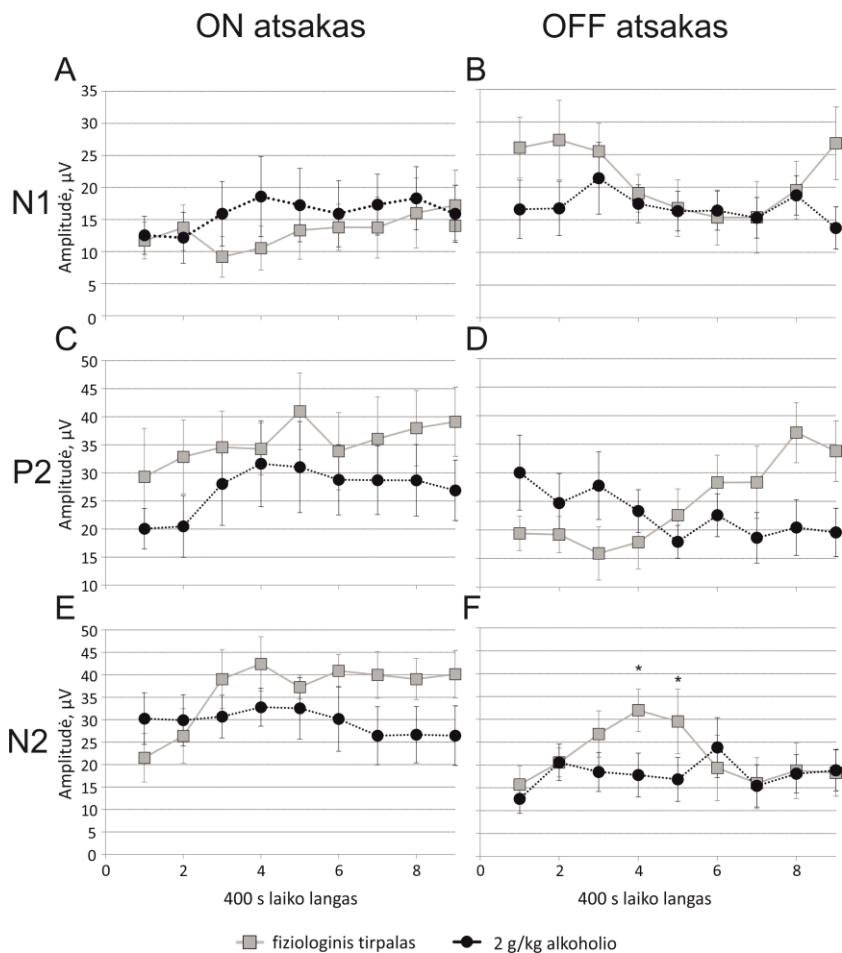
Šie duomenys parodė, kad tik dujinė anestezija arba kartu su ūmaus alkoholio vartojimu padidina visų trijų ON atsako komponentių latencijas ir dviejų pirmų OFF atsako komponentių latencijas (N1 ir P2). OFF atsake N2 yra vienintelė alkoholio nepaveikta komponentė.

### 3.1.2 Amplitudė

Amplitudžių analizė parodė, kad N1 komponentės, sukeltos stimulo įjungimo, amplitudė nekito laike ir nebuvo paveikta etanolio (Pav. 3.2A). OFF atsako N1 amplitudė po fiziologinio tirpalo injekcijos kito laike (faktorius laikas:  $F_{8,242} = 2.1$ ,  $P < 0.05$ ), tačiau nebuvo paveikta etanolio (Pav. 3.2B). Tiek ON, tiek OFF atsako P2 komponentės amplitudė nepriklausė nuo laiko ar injekcijos tipo (Pav. 3.2C, 3.2D).

Komponentės N2 amplitudės dinamiką pavaizduota paveiksluose 3.2E ir 3.2F. ON atsake nebuvo rastas statistiškai reikšmingas etanolio poveikis. Tačiau etanolis sumažino OFF atsako amplitudę (faktorius injekcijos tipas:  $F_{2,242} = 5.4$ ,  $P < 0.05$  ir faktorius laikas  $\times$  injekcijos tipas sąveiką:  $F_{16,242} = 2.3$ ,  $P < 0.01$ ). Post hoc analizė parodė, kad ketvirtame ir penktame laiko languose OFF atsako N2

komponentės amplitudė buvo mažesnė atitinkamai  $14.19 \pm 4.33 \mu\text{V}$  ir  $11.83 \pm 6.33 \mu\text{V}$  po etanolio injekcijos lyginant su fiziologinio tirpalo injekcija.



**Pav. 3.2.** RSP komponentių N1 (A, B), P2 (C, D), ir N2 (E, F) amplitudžių dinamika ( $\mu\text{V}$ ) po fiziologinio tirpalo ir 2 g/kg etanolio injekcijų. Vienos valandos įrašai buvo suskirstyti į devynis laiko langus po 400 s. Kiekviename laiko lange regimasis 500 ms trukmės stimulus buvo pateikiamas 100 kartų. Komponentių amplitudės buvo

skaičiuojama atsižvelgiant į stimulo įjungimą (A, C, E) ir išjungimą (B, D, F). \* rodo statistiškai patikimus skirtumus tarp fiziologinio tirpalo ir 2 g/kg etanolio injekcijų,  $P < 0.05$ , pasikliautiniai intervalai rodo S.E.M.

ON ir OFF atsakų palyginimas parodė, kad N1 komponentės amplitudė nesiskiria tarp ON ir OFF atsakų nei po fiziologinio tirpalo nei po etanolio injekcijų ( $P > 0.05$ ). Po fiziologinio tirpalo injekcijos ON atsako P2 komponentės amplitudė buvo didesnė  $16.26 \pm 2.77 \mu\text{V}$  nei OFF atsako (faktorius stimulo tipas:  $F_{1,161} = 6.9$ ,  $P < 0.05$ ). Detalesnė analizė parodė, kad ON/OFF asimetrija yra antrame – ketvirtame laiko languose. Tuo tarpu etanolio injekcija panaikino šiuos skirtumus tarp ON ir OFF atsakų. Tarp ON ir OFF atsakų skirtingos amplitudžių vertės buvo pastebėtos ir N2 komponentėje: po fiziologinio tirpalo injekcijos antrąją valandos pusę OFF atsako amplitudė buvo mažesnė  $21.91 \pm 2.37 \mu\text{V}$ , o po alkoholio injekcijos – pirmąją valandos pusę mažesnė  $14.64 \pm 2.63 \mu\text{V}$  nei ON atsako (atitinkamai, faktorius stimulo tipas:  $F_{1,161} = 12.34$ ,  $P = 0.008$  ir  $F_{1,161} = 15.6$ ,  $P < 0.01$ ).

Apibendrinus, amplitudžių analizė parodė, kad ūmus alkoholio vartojimas sumažina OFF atsako N2 komponentės amplitudę ir panaikina ON/OFF asimetriją P2 komponentėje.

### 3.2 Eksperimentas 2: Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą žiurkės regos žievėje ir šoniniame keliniam kūne

Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis regos žievės ir šoninio kelinio kūno ON ir OFF atsakams buvo tirtas analizuojant RSP, užregistruotus 8 savaitių alkoholio vartojimo ir 3 savaitių abstinencijos laikotarpiams. Šiame tyrime žiurkės suvartojo  $5.2 \pm 0.7 \text{ g/kg}$  per parą gryno etanolio. Rezultatai buvo sugrupuoti pagal eksperimentines sąlygas (alkoholio gėrimas ir abstinencija) (žiūrėti Pav. 2.2). Mūsų rezultatai parodė, kad alkoholio vartojimas ir abstinencija turi skirtingą poveikį ON ir OFF atsakams (Pav. 3.3, 3.4 ir lentelės 1, 2)

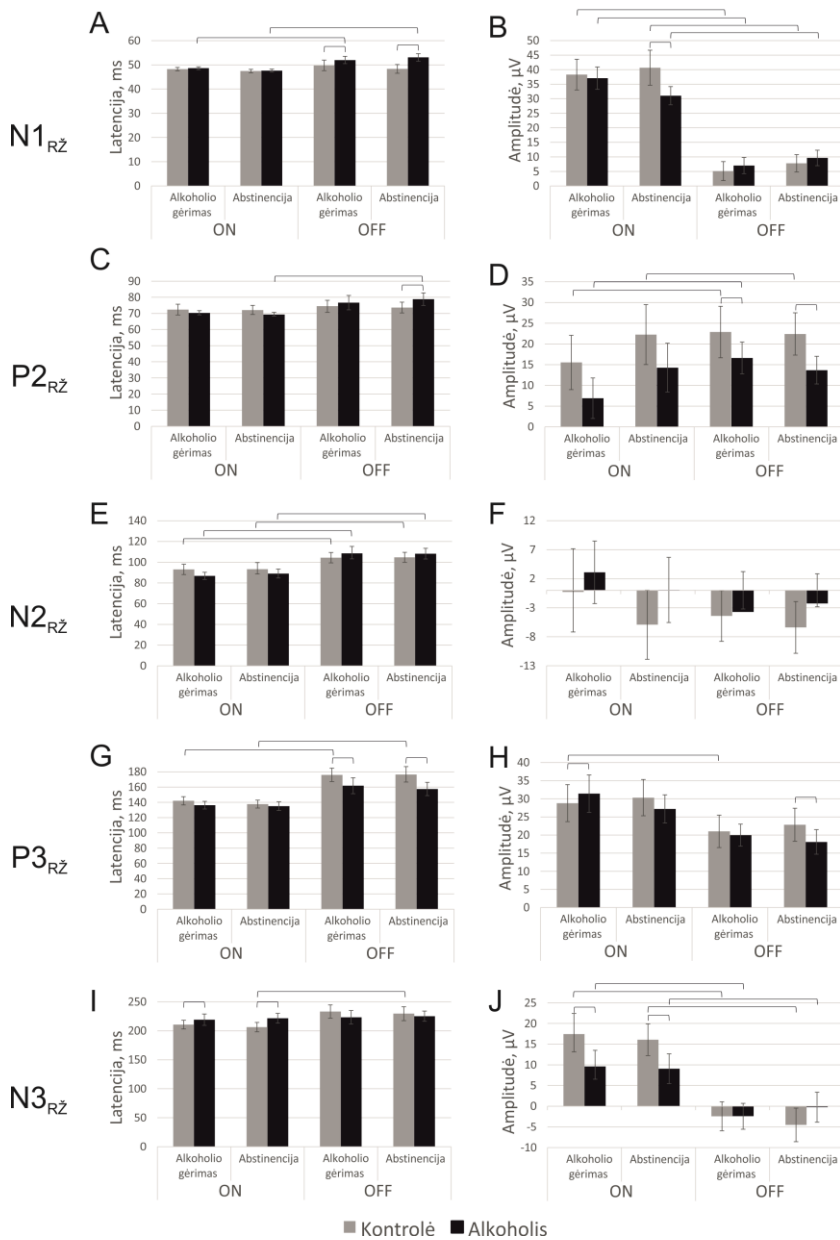
**Lentelė 1.** Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikio regimiesiems atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą santrauka. Įrašai ties kiekviena komponente rodo kaip ilgalaikis alkoholio vartojimas ar abstinencija paveikė komponentių latencijų ar amplitudžių vertes ON ir OFF atsakuose palyginus su kontrolinės grupės gyvūnais. Aukšтын nukreipta rodyklė nurodo, kad alkoholį vartojusiuose gyvūnuose parametro vertė statistiškai reikšmingai didesnė nei kontroliniuose gyvūnuose. Žemyn nukreipta rodyklė nurodo, kad alkoholį vartojusiuose gyvūnuose parametro vertė statistiškai reikšmingai mažesnė nei kontroliniuose gyvūnuose. Horizontalaus brūkšnelio ženklas nurodo statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvimą. RŽ = regos žievė, ŠKK = šoninis kelinis kūnas, ↑ = didesnis, ↓ = mažesnis, - = nėra pokyčių. Detalesnė analizė pateikta rezultatų skyriuje ir paveiksluose 3.3 ir 3.4.

| Komponentė        | Parametras | Gėrimas    |             | Abstinencija |             |
|-------------------|------------|------------|-------------|--------------|-------------|
|                   |            | ON atsakas | OFF atsakas | ON atsakas   | OFF atsakas |
| N1 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -          | ↑           | -            | ↑           |
|                   | Amplitudė  | -          | -           | ↓            | -           |
| P2 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -          | -           | -            | ↑           |
|                   | Amplitudė  | -          | ↓           | -            | ↓           |
| N2 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -          | -           | -            | -           |
|                   | Amplitudė  | -          | -           | -            | -           |
| P3 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -          | ↓           | -            | ↓           |
|                   | Amplitudė  | ↑          | -           | -            | ↓           |
| N3 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | ↑          | -           | ↑            | -           |
|                   | Amplitudė  | ↓          | -           | ↓            | -           |
| P1 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -          | ↓           | ↓            | -           |
|                   | Amplitudė  | -          | -           | -            | -           |
| N1 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -          | ↓           | -            | -           |
|                   | Amplitudė  | -          | -           | -            | -           |
| P2 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -          | -           | -            | -           |

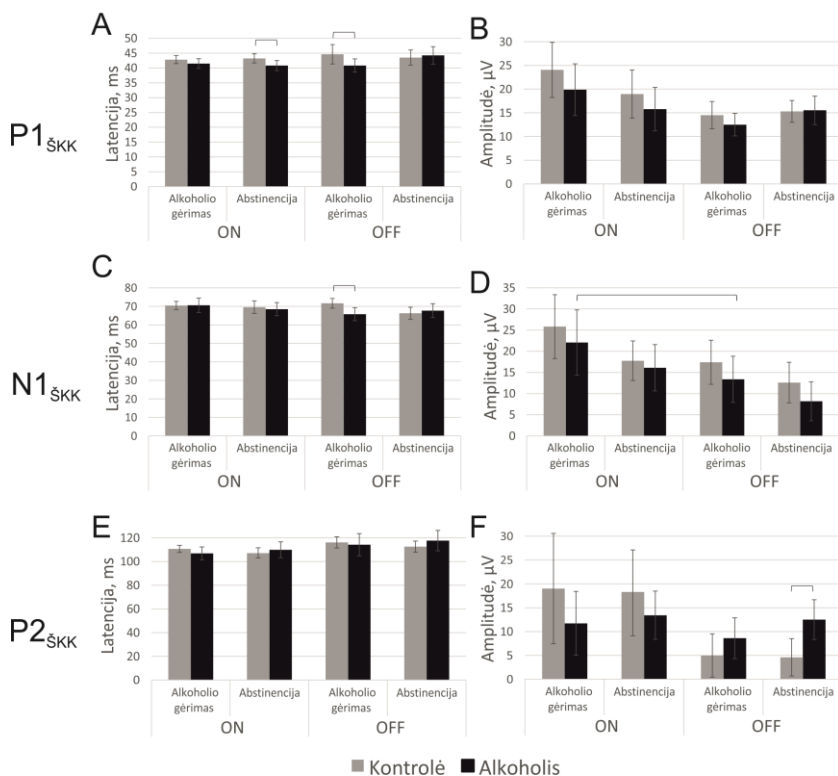
|           |   |   |   |   |
|-----------|---|---|---|---|
| Amplitudė | - | - | - | ↑ |
|-----------|---|---|---|---|

**Lentelė 2.** ON-OFF atsakų asimetrijos rezultatų santrauka ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos periodais kontrolinėse ir alkoholi vartojusiose žiurkėse. Aukštyn nukreipta rodyklė rodo, kad parametro vertė yra statistiškai reikšmingai didesnė ON atsake nei OFF atsake. Žemyn nukreipta rodyklė rodo, kad parametro vertė yra statistiškai reikšmingai mažesnė ON atsake nei OFF atsake. Horizontalaus brūkšnelio ženklas nurodo statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvimą. RŽ = regos žievė, ŠKK = šoninis kelinis kūnas, ↑ = didesnis, ↓ = mažesnis, - = nėra pokyčių. Detalesnė analizė pateikta rezultatų skyriuje ir paveiksluose 3.3 ir 3.4.

| Komponentė        | Parametras | Gėrimas   |          | Abstinencija |          |
|-------------------|------------|-----------|----------|--------------|----------|
|                   |            | Alkoholis | Kontrolė | Alkoholis    | Kontrolė |
| N1 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | ↓         | -        | ↓            | -        |
|                   | Amplitude  | ↑         | ↑        | ↑            | ↑        |
| P2 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -         | -        | ↓            | -        |
|                   | Amplitude  | ↓         | ↓        | -            | ↓        |
| N2 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | ↓         | ↓        | ↓            | ↓        |
|                   | Amplitude  | -         | -        | -            | -        |
| P3 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -         | ↓        | -            | ↓        |
|                   | Amplitude  | -         | ↑        | -            | -        |
| N3 <sub>RŽ</sub>  | Latencija  | -         | -        | -            | ↓        |
|                   | Amplitude  | ↑         | ↑        | ↑            | ↑        |
| P1 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -         | -        | -            | -        |
|                   | Amplitude  | -         | -        | -            | -        |
| N1 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -         | -        | -            | -        |
|                   | Amplitude  | ↑         | -        | -            | -        |
| P2 <sub>ŠKK</sub> | Latencija  | -         | -        | -            | -        |
|                   | Amplitude  | -         | -        | -            | -        |



**Pav. 3.3.** Regos žievės RSP komponentių ( $N1_{R\check{Z}}$ ,  $P2_{R\check{Z}}$ ,  $N2_{R\check{Z}}$ ,  $P3_{R\check{Z}}$ ,  $N3_{R\check{Z}}$ ), sukeltų stimulo įjungimo ir išjungimo, vidutinė latencija (A, C, E, G, I, ms) ir amplitudė (B, D, F, H, J,  $\mu V$ ) ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos metu. Komponentių latencija skaičiuota nuo stimulo įjungimo/išjungimo. Komponentių amplitudė buvo matuojama nuo bazinės linijos (100 ms potencialo prieš stimulo įjungimą/išjungimą vidutinė vertė). RSP signalas gautas suvidurkinus atsakus į 100 stimulų. Duomenys pateikti kaip vidurkiai, pasikliautiniai intervalai žymi S.E.M. Horizontalūs skliaustai žymi statistiškai reikšmingus skirtumus tarp gyvūnų grupių arba stimulo tipo,  $P < 0.05$ .



**Pav. 3.4.** Šoninio kelinio kūno RSP komponentių ( $P1_{\check{S}KK}$ ,  $N1_{\check{S}KK}$ ,  $P2_{\check{S}KK}$ ), sukeltų stimulo įjungimo ir išjungimo, vidutinė latencija (A, C,

E, ms) ir amplitudė (B, D, F,  $\mu\text{V}$ ) ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos metu. Komponentių latencija skaičiuota nuo stimulo įjungimo/išjungimo. Komponentių amplitudė buvo matuojama nuo bazinės linijos (100 ms potencialo prieš stimulo įjungimą/išjungimą vidutinė vertė). RSP signalas gautas suvidurkinus atsakus į 100 stimulų. Duomenys pateikti kaip vidurkiai, pasikliautiniai intervalai žymi S.E.M. Horizontalūs skliaustai žymi statistiškai reikšmingus skirtumus tarp gyvūnų grupių arba stimulo tipo,  $P < 0.05$ .

### 3.2.1 Ilgalaikio alkoholio vartojimo poveikis

Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikio regimiesiems atsakams į stimulo įjungimą ir išjungimą santrauką matoma Lentelėje 1. Dviejų gyvūnų grupių (kontrolinės ir vartojusios alkoholi) palyginimas parodė, kad tik dvi regos žievės ON atsako komponentės buvo paveiktos ilgalaikio alkoholio vartojimo: alkoholi vartojusiuose gyvūnuose  $P3_{R\check{Z}}$  komponentės amplitudė ir  $N3_{R\check{Z}}$  komponentės latencija buvo didesnė atitinkamai,  $2.62 \mu\text{V}$  ir  $8.43 \text{ ms}$  (faktorius grupė:  $F_{1,161}=4.1$ ,  $P < 0.05$  ir  $F_{1,161}=8.8$ ,  $P < 0.01$ ), o  $N3_{R\check{Z}}$  komponentės amplitudė mažesnė  $7.82 \mu\text{V}$  (faktorius grupė:  $F_{1,161}=17.4$ ,  $P < 0.001$ ) lyginant su kontroline grupe (Pav. 3.3H, 3.3I, 3.3J). Poveikis šoninio kelinio kūno komponentėms neužfiksuotas.

OFF atsako komponentės buvo jautresnės alkoholio vartojimui (buvo paveiktos penkios iš 8 analizuotos komponentės). Ilgalaikio alkoholio vartojimas sumažino  $P2_{R\check{Z}}$  amplitudę (alkoholi vartojusi grupė  $16.60 \pm 3.84 \mu\text{V}$ , kontrolinė grupė  $22.87 \pm 6.2 \mu\text{V}$ , faktorius grupė:  $F_{1,161}=6.2$ ,  $P < 0.05$ ) (Pav. 3.3D), sutrumpino  $14.19 \text{ ms}$   $P3_{R\check{Z}}$ ,  $3.79 \text{ ms}$   $P1_{\check{S}KK}$ ,  $5.88 \text{ ms}$   $N1_{\check{S}KK}$  komponentių latenciją (faktorius grupė:  $F_{1,161}=8.8$ ,  $P < 0.01$ ;  $F_{1,161}=6.9$ ,  $P < 0.01$ ;  $F_{1,161}=15$ ,  $P < 0.001$ , atitinkamai) (Pav. 3.3G, 3.4A, 3.4C) ir  $2.25 \text{ ms}$  padidino  $N1_{R\check{Z}}$  latenciją (faktorius grupė:  $F_{1,161}=6.01$ ,  $P < 0.05$ ) (Pav. 3.3A).



### 3.2.2 Abstinecijos poveikis

Abstinecijos laikotarpiu alkoholi vartojusiuose gyvūnuose ON atsako  $N1_{R\check{Z}}$  ( $31.05\pm 3.1 \mu V$  vs.  $40.66\pm 6.04 \mu V$ ),  $N3_{R\check{Z}}$  ( $9.06\pm 3.6 \mu V$  vs.  $16.08\pm 3.84 \mu V$ ) komponentių amplitudė ir  $P1_{\check{S}KK}$  ( $40.83\pm 1.7$  ms vs.  $43.24\pm 1.54$  ms) komponentės latencija (faktorius grupė:  $F_{1,107}=6.2$ ,  $P=0.015$ ;  $F_{1,107}=9.3$ ,  $P<0.01$ ;  $F_{1,107}=9.1$ ,  $P<0.01$ , atitinkamai) buvo mažesnė (Pav. 3.3B, 3.3J ir 4.4A), o  $N3_{R\check{Z}}$  ( $221.68\pm 8.53$  ms vs.  $206.37\pm 8.05$  ms) komponentės latencija didesnė (faktorius grupė:  $F_{1,107}=28.8$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3I) lyginant su kontroliniais gyvūnais. Detalesnė analizė parodė, kad  $N3_{VC}$  latencija buvo didesnė alkoholi vartojusiose žiurkėse 36 valandos nuo abstinecijos pradžios 16.51 ms ir 20.64 ms 4 – 20 abstinecijos dienomis. Tuo tarpu  $P1_{LGN}$  latencija buvo 3.33 ms mažesnė 60 valandų nuo abstinecijos pradžios.

OFF atsake abstinecijos metu  $N1_{R\check{Z}}$  ( $53.12\pm 1.58$  ms vs.  $48.32\pm 1.81$  ms) (Pav. 3.3A),  $P2_{R\check{Z}}$  ( $78.79\pm 3.89$  ms vs.  $73.62\pm 3.37$  ms) (Pav. 3.3C) latencija ir  $P2_{\check{S}KK}$  ( $12.5\pm 4.17 \mu V$  vs.  $4.6\pm 3.92 \mu V$ ) (Pav. 3.4F) amplitudė (faktorius grupė:  $F_{1,107}=22.9$ ,  $P<0.001$ ;  $F_{1,107}=5.6$ ,  $P<0.05$ ;  $F_{1,107}=10.8$ ,  $P<0.001$ , atitinkamai) buvo didesnė alkoholi gėrusiuose gyvūnuose lyginant su kontroline grupe. O  $P2_{R\check{Z}}$  amplitudė (faktorius grupė:  $F_{1,107}=11.5$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3D) ir abu  $P3_{VC}$  komponentės parametrai (faktorius grupė: latencija  $F_{1,107}=11.4$ ,  $P<0.001$ , amplitudė  $F_{1,107}=4.0$ ,  $P<0.05$ ) (Pav. 3.3G, 3.3H) buvo atitinkamai mažesni  $4.43 \mu V$ , 19.06 ms ir  $4.73 \mu V$  alkoholi vartojusiose žiurkėse. Taip pat abstinecijos poveikis  $N1_{R\check{Z}}$  komponentei priklausė nuo laiko: latencija buvo 5.60 ms didesnė 12-60 valandų laikotarpiu ir 5.08 ms 20-tą dieną nuo abstinecijos pradžios.

### 3.2.3 Skirtumai tarp ON ir OFF atsakų

ON-OFF atsakų asimetrijos rezultatų santrauka ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinecijos periodais kontrolinėse ir alkoholi vartojusiose žiurkėse matoma Lentelėje 2. ON ir OFF atsakų palyginimas kontroliniuose gyvūnuose parodė kokybinius skirtumus

kai kuriuose regos žievės, bet ne šoninio kelinio kūno RSP komponentėse. Kontroliniuose gyvūnuose ON atsako N1<sub>RŽ</sub> (ON 39.24±5.59 μV ir OFF 6.18±3.17 μV) ir N3<sub>RŽ</sub> (ON 16.89±4.32 μV ir OFF -3.27±3.73 μV) komponentių amplitudė buvo didesnė (faktorius stimulo tipas:  $F_{1,161}=38.62$ ,  $P<0.001$ ;  $F_{1,161}=27.43$ ,  $P<0.001$ , atitinkamai) (Pav. 3.3B, 13J), o P2<sub>RŽ</sub> (ON 18.21±6.89 μV ir OFF 22.68±5.77 μV) mažesnė (faktorius stimulo tipas:  $F_{1,161}=30.63$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3D) nei OFF atsako. Tuo tarpu latencijos analizė parodė nuoseklesnius rezultatus: N2<sub>RŽ</sub> (ON 93.06±5.16 ms ir OFF 104.5±4.91 ms) ir P3<sub>RŽ</sub> (ON 140.3±5.37 ms ir OFF 176.21±9.34 ms) komponentių latencija buvo trumpesnė (faktorius stimulus:  $F_{1,161}=14.72$ ,  $P<0.01$ ;  $F_{1,161}=13.28$ ,  $P<0.01$ , atitinkamai) atsake, sukeltame stimulo įjungimo nei išjungimo. (Pav. 3.3E, 3.3G).

Panaši ON-OFF asimetrija buvo pastebėta alkoholi vartojusių gyvūnų N1<sub>RŽ</sub> (alkoholio gėrimo metu ON 37.07±3.85 μV ir OFF 7.07±2.78 μV, faktorius stimulus:  $F_{1,161}=82.46$ ,  $P<0.001$ ; abstinencijos metu ON 31.05±3.14 μV ir OFF 9.63±2.66 μV, faktorius stimulus:  $F_{1,107}=71.39$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3B) ir N3<sub>RŽ</sub> (alkoholio gėrimo metu ON 9.6±3.5 μV vs. OFF -2.42±3.13 μV, faktorius stimulus:  $F_{1,161}=19.01$ ,  $P=0.002$ ; abstinencijos metu ON 9.06±3.6 μV ir OFF -0.23±3.62 μV, faktorius stimulus:  $F_{1,107}=28.94$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3J) komponentių amplitudėse ir N2<sub>RŽ</sub> latencijoje (alkoholio gėrimo metu ON 86.73±3.45 ms ir OFF 108.51±6.01 ms, faktorius stimulus:  $F_{1,161}=14.93$ ,  $P<0.01$ ; abstinencijos metu ON 89.01±4.37 ms ir OFF 108.21±5.11 ms, faktorius stimulus:  $F_{1,107}=11.3$ ,  $P<0.01$ ) (Pav. 3.3E). Tačiau alkoholio vartojimas sukėlė kitų komponentių parametrų ON/OFF asimetrijos pokyčius.

Alkoholio gėrimo laikotarpiu ON atsako N1<sub>RŽ</sub> komponentės latencija buvo trumpesnė (ON 48.64±0.61 ms ir OFF 51.98±1.5 ms; faktorius stimulo tipas:  $F_{1,161}=11.98$ ,  $P<0.01$ ) (Pav. 3.3A), o N1<sub>šKK</sub> komponentės amplitudė didesnė (ON 22.08±7.7 μV ir OFF 13.38±5.45 μV; faktorius stimulo tipas:  $F_{1,107}=10.05$ ,  $P<0.05$ ) (Pav. 3.4D) nei OFF atsako. Skirtumai N1<sub>RŽ</sub> komponentėje atsirado, nes alkoholio

vartojimas padidino latenciją OFF, bet ne ON atsake. Be to, alkoholis paveikė OFF, bet ne ON atsako  $P_{3R\check{z}}$  latenciją, taip panaikindamas latencijų skirtumą tarp ON ir OFF atsakų šioje komponentėje (Pav. 3.3G).

Abstinencijos laikotarpiu alkoholį vartojusiuose gyvūnuose (priešingai nei kontroliniuose gyvūnuose) nebuvo pastebėta  $P_{2R\check{z}}$  amplitudės ir  $P_{3R\check{z}}$  latencijos ON-OFF asimetrija (faktorius stimulo tipas:  $F_{1,107}=10.05$ ,  $P>0.05$ ) (Pav. 3.3D, 3.3G). Taip pat šiuo laikotarpiu alkoholį vartojusiuose žiurkėse ON atsako  $N_{1R\check{z}}$  (ON  $47.63\pm 0.6$  ms ir OFF  $53.12\pm 1.58$  ms; faktorius stimulus:  $F_{1,107}=42.86$ ,  $P<0.001$ ) (Pav. 3.3A) ir  $P_{2R\check{z}}$  (ON  $69.33\pm 1.15$  ms ir OFF  $78.79\pm 3.89$  ms; faktorius stimulus:  $F_{1,107}=11.18$ ,  $P<0.05$ ) (Pav. 3.3C) komponentių latencija tapo trumpesnė nei OFF atsako, ko nebuvo matoma kontroliniuose gyvūnuose. Visi šie RSP komponentių parametrų skirtumai tarp ON ir OFF atakų atsirado dėl abstinencijos poveikio OFF, bet ne ON atsakams.

## 4. Diskusija

Naudojant 500 ms trukmės stimulą mes galėjome registruoti atskirtus ON ir OFF atsakus, bei ištirti ūmaus ir ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikį šiems atsakams regos žievės ir požievio lygiuose. Mūsų tyrimai parodė, kad regos sistemos aktyvacija į 500 ms trukmės stimulo įjungimą kokybiškai skiriasi nuo aktyvacijos į stimulo išjungimą. Šie skirtumai matomi regos žievės lygyje. Be to, ON ir OFF atsakus skirtingai moduliuoja ūmus ir ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija. Mūsų tyrimai parodė, kad regos žievės lygyje tik dujinė anestezija arba kartu su ūmaus alkoholio vartojimu turi stiprų, nuo laiko priklausanti poveikį RSP komponentių latencijoms. Slopinanti alkoholio dozė nepaveikia N2 komponentės, sukeltos stimulo išjungimo, latencijos. Tuo tarpu ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija daro stiprų, ilgalaikį ir, kai kuriais atvejais, negrįžtamą poveikį regimosios informacijos apdorojimui. Pokyčiai regimosios informacijos apdorojimo grandinėje gali sąlygoti neteisingą regimojo stimulo parametrų apdorojimą ir neteisingą stimulo parametrų (pvz.: trukmės ir intensyvumo) suvokimą.

### 4.1 Ūmaus alkoholio vartojimo poveikis

Ankstesni tyrimai parodė, kad BSP komponentių amplitudė jautri ūmaus etanolio poveikiui ( Begleiter and Coltrera, 1975, Begleiter et al. 1972, Hetzler and Bednarek 2001, Hetzler et al. 1981, Hetzler et al. 1982, Hetzler et al. 1983, Hetzler et al. 1988). Yra žinoma, kad BSP komponentių amplitudė yra paveikiama tiek mažų (aktyvinantis poveikis), tiek didelių (slopinantis poveikis) alkoholio dozių. Kiti tyrimai rodo dviprasmiškus rezultatus ir teigia, kad įvairioms BSP komponentėms etanolio poveikis skiriasi: N<sub>29</sub>, N<sub>39</sub>, P<sub>88</sub>, N<sub>139</sub>, P<sub>234</sub> yra sumažinama etanolio, P<sub>22</sub>, N<sub>53</sub>, N<sub>65</sub> nepaveikiamos, o komponentės P<sub>46</sub> amplitudė padidėja po alkoholio injekcijos (Hetzler and Bauer 2013, Hetzler and Bednarek 2001, Hetzler and Martin 2006). Priešingai, nei latencijų atveju, etanolis labiau paveikia vėlyvųjų komponentių

amplitudes, nei ankstyvųjų (Hetzler et al. 1981). Daugumoje tyrimų nebuvo pastebėtas alkoholio poveikis N1 komponentės amplitudei (Hetzler and Bauer 2013, Hetzler and Martin 2006, Hetzler and Ondracek 2007, Hetzler et al. 1981, Hetzler et al. 2008). Tuo tarpu vėlyvosios komponentės amplitudė buvo sumažinta etanolio. Mūsų tyrimas sutinka su šiais rezultatais ir leidžia daryti išvadą, kad slopinanti alkoholio dozė sumažino atsaką į 500 ms trukmės regimojo stimulo išjungimą regos žievėje.

Šiame tyrime buvo pastebėti amplitudžių skirtumai tarp ON ir OFF atsakų po fiziologinio tirpalo injekcijos (Pav. 4.2). Tai rodo, kad stimulo įjungimas labiau stimuliuoja regos sistemą nei stimulo išjungimas. Konkrečiau kalbant, kontrolinėmis sąlygomis komponentių P2 ir N2 amplitudė ON atsake buvo didesnė nei OFF atsake, o alkoholio injekcija eliminavo (P2 komponentės atveju) arba padidino (N2 komponentės atveju) šį skirtumą labiau paveikiant ON nei OFF atsaką. RSP komponentių amplitudės padidėjimas atspindi stipresnę sensorinės informacijos apdorojimą arba padidėjusį regos sistemos sujaudinimą (Hetzler et al. 2008). P2 ir N2 komponentių amplitudžių ON/OFF asimetrija rodo, kad priešingai nei latencijų atveju, stimulo įjungimas ir išjungimas yra skirtingai apdorojimas regos žievės lygyje. Etanolis gali padidinti arba sumažinti regos žievės aktyvumą stimulo išjungimo atveju ir taip paveikti ON/OFF atsakų asimetriją skirtingose stimulo apdorojimo stadijose. Tokie pokyčiai gali sukelti regimojo stimulo apdorojimo sutrikimus.

Nors pirmasis eksperimentas parodė, kad anestezuotose Wistar linijos žiurkėse alkoholio injekcija stipriai padidina beveik visų RSP, sukeltų stimulo įjungimo ir išjungimo, komponentių latencijos dinamiką, mes negalime teigti, kad šie pokyčiai sukelti tiesioginio etanolio poveikio. Mes nustatėme, kad ON ir OFF atsakuose dujinė anestezija panašiai paveikė visų komponentių latencijų dinamiką, išskyrus komponentę N2. Nei dujinė anestezija, nei etanolis nepaveikė OFF atsako N2 latencijos. Tuo tarpu etanolio poveikis RSP

komponenčių amplitudėms nebuvo ryškus, reikšmingas poveikis buvo tik OFF atsako N2 komponentės amplitudėms.

Mūsų duomenys parodė, kad anestezuotose žiurkėse ūmus etanolio vartojimas pakėlė RSP komponenčių latencijos dinamikos kreives daugiau nei 30 ms. Šis padidėjimas prasidėjo praėjus 2 minutėms po etanolio injekcijos ir išliko visą duomenų įrašymo laiką – vieną valandą. Deja, panašus latencijos didėjimas buvo matomas ir po fiziologinio tirpalo injekcijos. Kadangi latencijos pokyčiai buvo matomi kontrolinėmis sąlygomis, mūsų rezultatai negali patvirtinti ir įvertinti tiesioginio alkoholio poveikio RSP komponenčių latencijoms. Tikėtina, kad mūsų eksperimento metu anestezija turėjo įtakos bendrai RSP komponenčių latencijai. Daugybė tyrimų parodė, kad dujiniai anestetikai sumažina kai kurių RSP komponenčių amplitudę ir padidina latenciją ir poveikis priklauso nuo anestetiko dozės (Ghita et al. 2013; Ito et al. 2014; Tanaka et al. 2020). Kiti tyrėjai parodė, kad priklausomai nuo anestezijos sevofluranu gylio, RSP komponenčių latencija svyravo iki 15 ms (Ghita et al. 2013). Nors mūsų viso eksperimento metu dujinės anestezijos lygis buvo palaikomas vienodas (MAC 3%), po fiziologinio tirpalo injekcijos daugumos RSP komponenčių latencija didėjo visos valandos laikotarpiu. Panašus latencijos didėjimas buvo matomas ir po etanolio injekcijos (antra eksperimento valanda). Be to latencija paskutiniu laiko langų kontrolinėmis sąlygomis sutapo su latencijos verte pirmu laiko langų po alkoholio injekcijos. Atrodo, kad visu RSP registravimo laiku (2 valandas) anestezijos gylis didėjo ir sukėlė latencijos didėjimą. Ankstesni tyrimai parodė, kad budriose, laisvai judančiose žiurkėse šviesos blyksnio sukeltų potencialių (BSP) komponenčių latencija padidėjo 20 minučių po etanolio injekcijos (Hetzler et al. 1981), o latencijų pokyčiai buvo trumpesni nei 4 ms (Hetzler and Bednarek 2001, Hetzler and Martin 2006, Hetzler et al. 1981, Hetzler et al. 1988). Nors mūsų eksperimente anestezija sukėlė latencijos didėjimą tačiau mes nepastebėjome jokio etanolio poveikio. To priežastis galėtų būti anestezijos specifiskumas. Tiek etanolis, tiek sevofluranas veikia

NMDA ir GABAA receptoriai (Nishikawa et al. 2005, Petrenko et al. 2014), o juos metabolizuoja tie patys fermentai (Klotz and Ammon 1998). Be to, anksčiau aptarti tyrimai rodo, kad dujinė anestezija turi stipresnį poveikį nei etanolis. Abu šie faktai paremia idėją, kad mūsų eksperimente etanolio poveikis bus užgožtas sevoflurano poveikio.

ON ir OFF atsakų latencija po alkoholio injekcijos ir fiziologinio tirpalo injekcijos N1 ir P2 komponentės nesiskyrė. Šios komponentės atspindi signalo perdavimą iš požievis į pirminę regos žievę. Tai rodo, kad požievis lygyje informacijos, apie stimulo įjungimą, apdorojimas yra panašus kaip ir apie stimulo išjungimą. Tai atitinka kitų sensorinių sistemų tyrimų rezultatus – klausos sukeltinio potencialo N1 komponentės, sukeltos stimulo įjungimo ir išjungimo, latencija nesiskyrė (Yamashiro et al. 2009). Tuo tarpu N2 komponentės analizė parodė, kad anestezija ir/ar etanolis paveikė informacijos, apie stimulo įjungimą, apdorojimą. Po fiziologinio tirpalo injekcijos šios komponentės latencija ON atsake buvo trumpesnė, nei OFF atsake. Po alkoholio injekcijos (antra valanda nuo anestezijos pradžios) N2 komponentės latenciją ON atsake padidėjo, bet ne OFF atsake. Taigi, tikėtina, kad tik anestezija arba anestezija kartu su etanolis paveikia informacijos apie stimulo trukmę apdorojimą regos žievės lygyje. Pavienių ląstelių tyrimai parodė, kad stimulo įjungimo atveju ląstelių įsijungimo latencija labiau varijuoja ir labiau priklauso nuo stimulo tipo nei stimulo išjungimo atveju (Bair et al. 2002, Tadin et al. 2010). Jeigu atsakas į stimulo įjungimą yra paveikiamas, o atsakas į stimulo išjungimą nepaveikiamas, tikėtina, kad visas stimulus bus apdorojamas kaip kitokios trukmės nei yra iš tikrųjų. Kadangi smegenys apdoros stimulo įjungimą su didesne latencija lyginant su normaliomis sąlygomis, o stimulo pabaiga išliks nepakitęs, todėl regimas stimulus bus apdorotas kaip trumpesnis. Kitų autorių atlikti tyrimai rodo, kad pakitęs informacijos apie stimulo įjungimo ir išjungimo apdorojimas paveikia reakcijos laiko sensorinį etapą (Hari et al. 1987; Yamashiro et al. 2008; Yamashiro et al. 2009; Serviere et al. 1977). Mūsų duomenys patvirtina kitų tyrėjų rezultatus ir juos praplečia žiniomis, kad

anestezija arba anestezija kartu su alkoholiu turi didesnę poveikį sensoriniam atsakui į stimulo įjungimą, nei į išjungimą.

#### 4.2 Ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis

Mūsų rezultatai parodė, kad ilgalaikis alkoholio vartojimo paveikė tik dvi ON atsako komponentes –  $P_{3RZ}$  amplitudė ir  $N_{3RZ}$  latencija padidėjo, o  $N_{3RZ}$  amplitudė sumažėjo. Dauguma prieš tai atliktų tyrimų parodė, kad alkoholio intoksikacija sumažina tiek ankstyvųjų ( $P1-N1$ ,  $N1-P2$ ) tiek vėlyvųjų ( $P3-N3$ ) komponentių amplitudes (Begleiter 1975; Begleiter and Porjesz 1977; Bierley *et al.* 1980; Kjellstrom *et al.* 1994) ir padidina  $P2$  latenciją (Bierley *et al.* 1980). Toks poveikis yra neuronų žūties ir pažeisto mielino dangalo pasekmė (Johnsen-Soriano *et al.* 2007; Sancho-Tello *et al.* 2008); Tačiau yra tyrėjų, kurie užfiksavo padidėjusias RSP komponentių amplitudes (Sokomba and Osuide 1985). Toks rezultatų neatitikimas dalinai galėtų būti paaiškintas metodologiniais skirtumais: 1) visi prieš tai atlikti tyrimai koncentravosi į ūmią abstinenciją ir santykinai trumpo laiko intoksikacijos stadiją (iki vieno mėnesio); 2) kituose tyrimuose žiurkės suvartojo didelį alkoholio kiekį (iki 15 g/kg per dieną) ir 3) etanolis buvo pateikiamas intubuojant gyvūną, skystos dietos ar alkoholio garų pavidalu, kas dažnai sukeldavo gyvūno svorio sumažėjimą (Begleiter 1975; Kjellstrom *et al.* 1994).

Abstinencijos rezultatai taip pat rodo, kad metodiniai skirtumai galėjo įtakoti neatitikimus, tarp mūsų tyrimo metu gautų rezultatų ir kitų autorių rezultatų. Visi prieš tai atlikti abstinencijos poveikio BSP komponentėms tyrimai rodė padidėjusią komponentių amplitudę, o tai atskleidžia padidėjusį regos sistemos jautrumą. Tuo tarpu poveikis latencijai nebuvo fiksuojamas (Begleiter 1975; Bierley *et al.* 1980; Sokomba and Osuide 1985; Kjellstrom *et al.* 1994). Dažniausiai amplitudės padidėjimas pasiekia piką apie 8-10 valandų po alkoholio pašalinimo pradžios ir apie savaitę išlieka dalinai padidėjusi. (Bierley *et al.* 1980; Sokomba and Osuide 1985; Kjellstrom *et al.* 1994). Tačiau mūsų rezultatai rodo sumažėjusią amplitudę ir padidėjusią latenciją



regos žievės tiek ON, tiek OFF atsakuose. To priežastis galėtų būti neoptimalus registravimų laiko langas: abstinencijos laikotarpiu pirmas registravimas buvo atliktas po 12 val. po alkoholio pakeitimu vandeniu. Kiti tyrėjai pirmus abstinencijos požymius fiksavo 6-7 valandos nuo abstinencijos pradžios (Begleiter 1975; Begleiter and Porjesz 1977), todėl mes galėjome praleisti didžiausio sužadavimo laiką. Nepaisant to, mūsų duomenys rodo sumažėjusią ON atsako P1<sub>ŠKK</sub> latenciją, kas rodo pagreitėjusį signalo apdorojimą ŠKK perdavimo ląstelėse.

ON atsake N3<sub>RŽ</sub> komponentės, kuri atspindi antrąją piramidinių neuronų aktyvacijos bangą (Mwanza et al. 2008), abu parametrai buvo paveikti alkoholio vartojimo ir abstinencijos. Tai rodo, kad paskutinė regimosios informacijos, apie stimulo įjungimą, apdorojimo stadija yra jautriausia. Tuo tarpu OFF atsako komponentės buvo stipriau moduluojamos alkoholio vartojimo ir abstinencijos: buvo paveiktos N1<sub>RŽ</sub>, P2<sub>RŽ</sub> ir P3<sub>RŽ</sub> komponentės, o poveikio pobūdis buvo toks pats alkoholio vartojimo ir abstinencijos stadijomis. Dvi regos žievės OFF atsako komponentės – N2<sub>RŽ</sub> ir N3<sub>RŽ</sub> – nebuvo paveiktos. Prieš tai atlikti mūsų tyrimai parodė, kad paskutinė OFF atsako komponentė nėra paveikiama ūmaus alkoholio vartojimo (Dulinskas *et al.* 2017). Šie rezultatai suponuoja, kad stimulo įjungimo ir išjungimo atvejais N3<sub>RŽ</sub> komponentės kilmė skiriasi. Taip pat alkoholio vartojimas sumažina OFF atsako P1<sub>ŠKK</sub> ir N1<sub>ŠKK</sub> komponentių latenciją (Pav. 4.4A ir 4.4C), tačiau šie pokyčiai grįžtami (abstinencijos laikotarpiu latenciją nesiskyrė nuo kontrolinės grupės). Apibendrinus, poveikio N1<sub>RŽ</sub>, P2<sub>RŽ</sub>, P3<sub>RŽ</sub>, P1<sub>ŠKK</sub> ir N1<sub>ŠKK</sub> komponentėms rezultatai rodo, kad alkoholio vartojimas paveikia regimosios informacijos, apie stimulo išjungimą, apdorojimą tiek regos žievės, tiek šoninio kelinio kūno lygiuose.

#### 4.3 Stimulo įjungimo – išjungimo asimetrija

Mūsų tyrimas atskleidė, kad ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija sukelia ir/ar panaikina skirtumus tarp ON ir OFF atsakų dažniausiai paveikiant OFF atsaką. Tokia atsakų į stimulo įjungimą –

išjungimą asimetrijos moduliacija matoma regos žievės, bet ne šoninio kelinio kūno lygyje. ON – OFF asimetrija galėtų būti paaiškinta skirtingais ON ir OFF atsakų generavimo neuroniniais mechanizmais. Atsakų į stimulo įjungimą – išjungimą asimetrija yra pastebėta skirtingose gyvūnų rūšyse skirtingose regos sistemos lygiuose. Musės smegenyse buvo parodyti anatomiškai atskirti keliai atsakingi už reakciją į šviesos įjungimą ir išjungimą (Strother et al. 2014). Žinduoliuose regimoji informacija regos sistemoje yra apdorojama funkciškai atskirtuose ON-centriniam ir OFF-centriniam keliuose, kurie nesąveikauja iki pirminės regos žievės (Schiller 1992). Primatų tinklainėje ON-centrinės ląstelės ne tik turi didesnius receptinius laukus, bet ir greitesnius atsakus lyginant su OFF-centrinėmis ląstelėmis. Tai rodo ON ir OFF kelių asimetriją tinklainėje (Chichilnisky and Kalmar 2002). Tuo tarpu ilgesnė įsijungimo latencija ŠKK ir RŽ ląstelėse nepriklauso nuo ląstelės tipo (Bair et al. 2002). Kituose modalumuose taip pat matomi atsakai į stimulo įjungimą ir išjungimą ir jų asimetrija ląstelių populiacijų lygyje (Noda et al. 1998; Yamashiro et al. 2008). Šie tyrimai teigia, kad OFF atsakas mažiau varijuoja (Tadin et al. 2010; Sato 2016) ir stimulo išjungimo įvykis tarnauja kaip patikimesnis įvykis nei stimulo įjungimas. Šis tyrimas pirmą kartą parodė, kad egzistuoja kokybiniai skirtumai tarp ON ir OFF atsakų regos žievės, bet ne šoninio kelinio kūno lygiuose. Taip pat mūsų rezultatai parodė laikinę ON – OFF asimetriją  $N_{2RZ}$  ir  $P_{3RZ}$  komponentėse. Tai rodo, kad informacijos įėjimas į regos žievę (išskyrus tiesioginį įėjimą iš ŠKK) yra apdorojamas greičiau stimulo įjungimo atveju lyginant su stimulo išjungimu. Didesnė  $N_{1RZ}$ ,  $N_{3RZ}$  ir mažesnė  $P_{2RZ}$  komponentių amplitudė ON nei OFF atsake rodo, kad stimulo įjungimo ir išjungimo atvejais regos žievės viduje signalo perdavime dalyvauja skirtingas neuronų kiekis (ar sužadinimas). Taip pat mūsų duomenys rodo kad alkoholio vartojimas ir abstinencija moduluoja ON – OFF asimetriją paveikiant OFF atsaką. Visi šie rezultatai suponuoja, kad skirtingi neuroniniai mechanizmai dalyvauja

ON ir OFF atsakų generavime, o OFF atsakas yra jautresnis ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikiui.

Mūsų rezultatai rodo, kad ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija paveikia tik OFF atsaką ŠKK ir RŽ lygiuose. Ilgalaikis alkoholio vartojimas veikia smegenų funkcijas dvejais keliais: padidina neurotoksiškumą, taip sukeldami neuronų žūtį (Alfonso-Loeches & Consuelo Guerri 2011; Chastain & Sarkar 2014), ir sukelia nervų sistemos adaptaciją, pvz.: sumažina GABA, padidina dopamino, NMDA (Most et al. 2014) ir AMPA (Lewohl et al. 2000) receptorių ekspresiją. Didesnio alkoholio vartojimo poveikio OFF atsakui priežastis galėtų būti ta, kad alkoholis poveikė signalą prieš šiam pasiekiant šoninį kelinį kūną, t.y. tinklainės lygyje.

Kolbelės ir lazdelės signalo perdavimui naudoja glutamato molekules, tačiau skirtingo tipo bipolinės ląstelės naudoja skirtingus neurotransmiterių receptorius: ON – centrinės ląstelės turi metabotropinius glutamato (mGluR6) (Slaughter & Miller 1983b; Slaughter & Miller 1983a), o kai kurios jonotropinius AMPA receptorius (Vardi et al. 1998). Tuo tarpu OFF – centrinės bipolinės ląstelės turi AMPA arba kainato receptorius (Devries & Schwartz 1999; Devries 2000; Peng et al. 1995; Nelson et al. 2001). ON ir OFF bipolinių ląstelių tyrimai rodo, kad retinogramoje etanolis padidina ON bipolinių ląstelių generuojamos b-bangos amplitudę ir sumažina latenciją. Tuo tarpu etanolio poveikis OFF bipolinių ląstelių generuotai d-bangai priešingas: amplitudė sumažėja, o latencija padidėja (Bernhard & Knave 1973; Kuzeva et al. 2015). Tai pat kai kurie tyrimai parodė, kad didelės alkoholio koncentracijos moduliuoja ne-tinklainės neuronų AMPA srovę (Santerre et al. 2014; Marty & Spigelman 2012). Tikėtina, kad aktyvinantis etanolio poveikis ON – bipolių ląstelių atsakui yra per ne-NMDA jonotropinių glutamato receptorių slopinimą horizontaliosiose ląstelėse, bet ne per poveikį mGluR6. Tuo tarpu slopinantis alkoholio poveikis OFF – bipolinėms ląstelėms yra dėl tiesioginio OFF – bipolių ląstelių ne-NMDA jonotropinių glutamato receptorių slopinimo (Kuzeva et al. 2015). Purkinje ląstelėse

elektrofiziologiniai atsakai taip pat moduluojami etanolio per mGluRs (Netzeband & Gruol 1995). Ir nors kiti tyrimai nerado jokių įrodymų, kad mGluR yra paveikiami ūmaus ar ilgalaikio alkoholio vartojimo (Chandler 2003), tačiau ilgalaikio alkoholio vartojimo atveju yra užfiksuoti AMPA receptorių ekspresijos pakitimai mesocortikolimbiniėje srityje (Salling et al. 2014; Chandler et al. 1999). Jeigu taip yra ir regos sistemoje, ilgalaikis alkoholio vartojimas galėtų moduluoti AMPA receptorių ekspresiją OFF – centrinėse bipolinėse ląstelėse, o tai galėtų turėti įtakos OFF atsakui ŠKK ir RŽ.

ON ir OFF atsakų mechanizmai yra vis dar diskutuoti. Kai kurie tyrėjai remia teoriją, kad ON/OFF atsakai generuojami ON ir OFF centrinių kelių, kurie prasideda tinklainės vidiniame tinkliniame sluoksnyje. (Chichilnisky & Kalmar 2002; Zemon et al. 1988). Tačiau kiti tyrimai paremia mintį, kad ON ir OFF atsakai atsiskiria tik regos žievės lygyje (Padnick & Linsenmeier 1999; Liang et al. 2008; Bair et al. 2002). Mūsų tyrimas rodo, kad abi regos žievės ON atsako vėlyvosios komponentės ( $P3_{RŽ}$  ir  $N3_{RŽ}$ ) yra paveiktos alkoholio vartojimo. Šios komponentės atspindi gumburo – žievės kelią (Shearer et al. 1976). Šie rezultatai leidžia manyti, kad ON atsake alkoholis paveikia tik gumburo – žievės kelią. Tuo tarpu OFF atsake alkoholio vartojimas ir abstinencija paveikė ankstyvasias ir vėlyvasias komponentes. Svarbu pažymėti, kad ankstyvosios komponentės buvo paveiktos labiau nei vėlyvosios. Yra žinoma, kad ankstyvosios komponentės (pirminės – P1 ir N1, ir antrinės – P2 ir N2) atspindi tinklainės – gumburo – žievės kelio aktyvumą (Eells & Wilkison 1989). Kartu šie duomenys paremia idėją, kad skirtingas alkoholio poveikis ON ir OFF atsakams kyla iš skirtingų neuroninių kelių.

Kitas veiksnys, galėjęs turėti poveikį ON/OFF asimetrijai, yra stimulo intensyvumas. Stimulo intensyvumas stipriai moduluoja RSP komponentių amplitudę ir latenciją (Creel et al. 1974; Lopez et al. 2002). Tyrimai, atlikti su žmonėmis, rodo, kad stimulo intensyvumas skirtingai moduluoja individualias komponentių latencijas: ON atsake latencijų variacija žema, kai stimulo intensyvumas didelis

(20000 lx), o OFF atsake – kai stimulo intensyvumas mažas (10000 lx) (Sato 2016). Siekiant apsaugoti gyvūnų akis nuo pažeidimo, mes naudojome santykinai žemo intensyvumo stimulą (750 lx). Dauguma tyrimų rodo, kad didėjant stimulo intensyvumui BSP komponenčių amplitudė didėja, o latencija mažėja (Tomita et al. 2009; Herr et al. 1991; Creel et al. 1974; Arena et al. 2017). Tačiau nėra aišku kaip mūsų eksperimente naudotas stimulo intensyvumas paveikė ON ir OFF atsakų latencijos skirtumus, kadangi žiurkės ir žmogaus regos sistemos nevienodai jautrios šviesai (Burn 2008).

Apibendrinant, šis darbas rodo, kad ūmus ir ilgalaikis alkoholio vartojimas ir/ar abstinencija skirtingai moduliuoja informacijos, apie stimulo įjungimą ir išjungimą, apdorojimą regos žievės ir šoninio kelinio kūno lygiuose.

## 5. Išvados

1. Žiurkių regos žievėje RSP komponentių  $N1_{R\check{Z}}$ ,  $N3_{R\check{Z}}$  amplitudė yra didesnė, o komponentių  $P2_{R\check{Z}}$  amplitudė ir  $N2_{R\check{Z}}$ ,  $P3_{R\check{Z}}$  latencija mažesnė stimulo įjungimo metu nei stimulo išjungimo metu.
2. Regos žievės lygyje sevofluranu anestezuotuose žiurkėse ON atsako  $N2$  komponentės latencija yra padidėjusi labiau nei OFF atsake; OFF atsako amplitudė yra labiau sumažinama ūmaus alkoholio vartojimo nei ON atsako.
3. Ilgalaikis alkoholio vartojimas ir abstinencija sumažina ON atsako amplitudę ir padidina latenciją paskutinėje informacijos apdorojimo stadijoje regos žievės lygyje ir neturi poveikio šoninio kelinio kūno lygyje.
4. Atsakas į stimulo išjungimą yra moduluojamas ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos regos žievės (padidina komponentių  $N1_{R\check{Z}}$ ,  $P2_{R\check{Z}}$  latenciją, sumažina  $P3_{R\check{Z}}$  latenciją ir  $P2_{R\check{Z}}$ ,  $P3_{R\check{Z}}$  amplitudę) ir šoninio kelinio kūno lygiuose (sumažina komponentių  $P1_{\check{S}KK}$  latenciją ir padidina  $P2_{\check{S}KK}$  amplitudę).
5. Regos žievės ir šoninio kelinio kūno lygiuose atsako į stimulo išjungimą didesnis skaičius parametrų yra paveikiami ilgalaikio alkoholio vartojimo ir/ar abstinencijos lyginant su atsaku į stimulo įjungimą.

## 6. Literatūros sąrašas

1. Alfonso-Loeches, S. & Consuelo Guerri, 2011. Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 48(1), pp.19–47.
2. Arena, A. et al., 2017. Linear transformation of the encoding mechanism for light intensity underlies the paradoxical enhancement of cortical visual responses by sevoflurane. *J Physiol*, 596(1), pp.321–339.
3. Baba, H. et al., 2016. Auditory cortical field coding long- lasting tonal offsets in mice. *Sci. Rep.*, 6, pp.1–11.
4. Bair, W. et al., 2002. The timing of response onset and offset in macaque visual neurons. *The Journal of Neuroscience*, 22(8), pp.3189–205.
5. Begleiter, H., 1975. Evoked Potential Changes During Ethanol Withdrawal in Rats. *Amer. J. Drug & Alcohol Abuse*, 2(2), pp.263–268.
6. Begleiter, H., Branchey, M. & Kissin, B., 1972. Effects of ethanol on evoked potentials in the rat. *Behavioral Biology*, 7, pp.137–142.
7. Begleiter, H. & Coltrera, M., 1975. Evoked Potential Changes During Ethanol Withdrawal in Rats. *Amer. J. Drug & Alcohol Abuse*, 2(2), pp.263–268.
8. Begleiter, H. & Porjesz, B., 1977. Persistence of brain hyperexcitability following chronic alcohol exposure in rats. *Adv Exp Med Biol.*, 85B, pp.209–222.
9. Bernhard, G. & Knave, B., 1973. Differential Effects of Ethyl Alcohol on Retinal Functions. *Acta Physiol Scand.*, 88(3), pp.373–381.
10. Bierley, R.A. et al., 1980. Effects of Alcohol on Visually Evoked Responses in Rats During Addiction and Withdrawal. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 12, pp.909–915.
11. Brown, B. et al., 1975. Effects of alcohol and marijuana on dynamic

- visual acuity: I . Threshold measurements. *Perception & Psychophysics*, 18(6), pp.441–446.
12. Burn, C.C., 2008. What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 112, pp.1–32.
  13. Carmona R, Luján R, Calvente R, Abadía-Molina F, A.-F.F., 1994. Quantitative alterations after long-term alcohol administration in the dorsal lateral geniculate nucleus (dLGN) in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Alcohol and Alcoholism*, 29(1), pp.79–89.
  14. Castro, J.J. et al., 2014. Retinal-image quality and night-vision performance after alcohol consumption. *Journal of ophthalmology*, pp.1–7.
  15. Chandler, L.J., 2003. Ethanol and brain plasticity: receptors and molecular networks of the postsynaptic density as targets of ethanol. *Pharmacology & Therapeutics*, 99, pp.311–326.
  16. Chandler, L.J., Norwood, D. & Sutton, G., 1999. Chronic Ethanol Upregulates NMDA and AMPA, but Not Kainate Receptor Subunit Proteins in Rat Primary Cortical Cultures. *Alcohol Clin Exp Res.*, 23(2), pp.363–370.
  17. Chastain, L.G. & Sarkar, D.K., 2014. Role of Microglia in Regulation of Ethanol Neurotoxic Action. *International Review of Neurobiology*, 118, pp.81–103.
  18. Chen, B. et al., 2010. The effects of acute alcohol exposure on the response properties of neurons in visual cortex area 17 of cats. *Toxicology and applied pharmacology*, 243(3), pp.348–58.
  19. Chichilnisky, E.J. & Kalmar, R.S., 2002. Functional Asymmetries in ON and OFF Ganglion Cells of Primate Retina. *The Journal of Neuroscience*, 22(7), pp.2737–2747.
  20. Creel, D., Dustman, R. & Beck, E., 1974. Intensity of flash illumination and the visually evoked potential of rats, guinea pigs and cats. *Vision research*, 14, pp.725–729.
  21. Crews, F.T., 2006. Alcohol and Neurodegeneration. *CNS Drug*



- Reviews*, 5(4), pp.379–394.
- 22.Devries, S.H., 2000. Bipolar Cells Use Kainate and AMPA Receptors to Filter Visual Information into Separate Channels. *Neuron*, 28(3), pp.847–856.
  - 23.Devries, S.H. & Schwartz, E.A., 1999. Kainate receptors mediate synaptic transmission between cones and ' Off ' bipolar cells in a mammalian retina. *Nature*, 397(6715), pp.157–160.
  - 24.Donnely, M. & Miller, R.J., 1995. Ingested Ethanol and Binocular Rivalry. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 36(8), pp.1548–1554.
  - 25.Dulinkas, R. et al., 2017. Effect of ethanol on the visual - evoked potential in rat : dynamics of ON and OFF responses. *Acta Neurobiol Exp*, 77, pp.190–197.
  - 26.Eells, J. & Wilkison, D.M., 1989. Effects of intraocular mescaline and LSD on visual-evoked responses in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(1), pp.191–196.
  - 27.Fisch, B. & Spehlmann, R., 1999. The source of the EEG. In *EEG primer basic principles of digital and analog EEG*. pp. 3–17.
  - 28.Geiger, B.M. et al., 2008. Survivable stereotaxic surgery in rodents. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (20), pp.5–6.
  - 29.Ghita, A. et al., 2013. Analysis of the visual evoked potential in anesthesia with sevoflurane and chloral hydrate. *Journal of Medicine and Life*, 6(2), pp.214–225.
  - 30.Gutierrez, R. & Heinemann, U., 1999. Synaptic reorganization in explanted cultures of rat hippocampus. *Brain research*, 815, pp.304–316.
  - 31.Hari, R. et al., 1987. Neuromagnetic responses of the human auditory cortex to on- and offsets of noise bursts. *Audiology : official organ of the International Society of Audiology*, 26(1), pp.31–43.
  - 32.Herr, D.W., Boyes, W.K. & Dyer, R.S., 1991. Rat flash-evoked potential peak N160 amplitude: Modulation by relative flash intensity. *Physiology and Behavior*, 49(2), pp.355–365.

33. Hetzler, B. et al., 1988. Temperature-dependent changes in visual evoked potentials of rats. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 70(2), pp.137–154.
34. Hetzler, B.E. et al., 1981. Acute effects of alcohol on evoked potentials in visual cortex and superior colliculus of the rat. *Electroencephalography and clinical Neurophysiology*, 51(1), pp.69–79.
35. Hetzler, B.E. et al., 1982. Acute effects of alcohol on photic evoked potentials of albino rats: visual cortex and superior colliculus. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 17(6), pp.1313–6.
36. Hetzler, B.E. et al., 1983. Acute effects of alcohol on photic evoked potentials of rats: lateral geniculate nucleus and reticular formation. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 18 Suppl 1, pp.483–7.
37. Hetzler, B.E. & Bauer, A.M., 2013. Interactions between mecamylamine and alcohol in Long-Evans rats: flash-evoked potentials, body temperature, behavior, and blood alcohol concentration. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 43, pp.29–39.
38. Hetzler, B.E. & Bednarek, E.M., 2001. Effects of ethanol on flash-evoked potentials of rats: lack of antagonism by naltrexone. *Alcohol*, 25(1), pp.21–30.
39. Hetzler, B.E. & Martin, E.I., 2006. Nicotine-ethanol interactions in flash-evoked potentials and behavior of Long-Evans rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 83(1), pp.76–89.
40. Hetzler, B.E. & Ondracek, J.M., 2007. Baclofen alters flash-evoked potentials in Long-Evans rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 86(4), pp.727–40.
41. Hetzler, B.E., Ondracek, J.M. & Becker, E. a, 2008. Baclofen does not counteract the acute effects of ethanol on flash-evoked potentials in Long-Evans rats. *The International journal of neuroscience*, 118(11), pp.1558–81.
42. Hill, J.C. & Toffolon, G., 1990. Effect of alcohol on sensory and

- sensorimotor visual functions. *Journal of studies on alcohol*, 51(2), pp.108–13.
43. Yamashiro, K. et al., 2009. Automatic auditory off-response in humans: an MEG study. *The European journal of neuroscience*, 30(1), pp.125–31.
  44. Yamashiro, K. et al., 2008. Somatosensory off-response in humans: an ERP study. *Experimental brain research.*, 190(2), pp.207–13.
  45. Ito, Y. et al., 2014. Effect of sevoflurane concentration on visual evoked potentials with pattern stimulation in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 77(2), pp.155–60.
  46. Yu, S. et al., 2006. Functional degradation of extrastriate visual cortex in senescent rhesus monkeys. *Neuroscience*, 140(3), pp.1023–9.
  47. Johnsen-Soriano, Genovés JM, Romero B, García-Delpech S, Muriach M, Sancho-Tello M, Bosch-Morell F, R.F., 2007. Chronic ethanol feeding induces oxidative stress in the rat retina: treatment with the antioxidant ebselen. *Arch Soc Esp Oftalmol*, 82(12), pp.757–762.
  48. Johnston, K.D. & Timney, B., 2008. Effects of acute ethyl alcohol consumption on a psychophysical measure of lateral inhibition in human vision. *Vision Research*, 48, pp.1539–1544.
  49. Kenemans, J.L. et al., 2010. Moderate alcohol disrupts a mechanism for detection of rare events in human visual cortex. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 24(6), pp.839–45.
  50. Kjellstrom, C. et al., 1994. Alterations in Cortical Visual Evoked Response following Ethanol Feeding in Adult Rats. *Alcoholism: clinical and experimental research*, 18(6), pp.1392–1397.
  51. Klotz, U. & Ammon, E., 1998. Clinical and toxicological consequences of the inductive potential of ethanol. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 54, pp.7–12.
  52. Kunchulia, M., Pilz, K.S. & Herzog, M.H., 2012. How alcohol intake affects visual temporal processing. *Vision Research*, 66, pp.11–6.
  53. Kuzeva, A. et al., 2015. Opposite effects of ethanol on

- electroretinographic ON and OFF responses are due to its action in the distal retina. *Journal of Psychiatry and Brain Functions*, 2(6).
54. Lewohl, J.M. et al., 2000. Gene Expression in Human Alcoholism: Microarray Analysis of Frontal Cortex. *Alcoholism: clinical and experimental research*, 24(12), pp.1873–1882.
55. Liang, Z. et al., 2008. Comparative study on the offset responses of simple cells and complex cells in the primary visual cortex of the cat. *Neuroscience*, 156(2), pp.365–373.
56. Little, H.J., 1999. The contribution of electrophysiology to knowledge of the acute and chronic effects of ethanol. *Pharmacology and Therapeutics*, 84, pp.333–353.
57. Di Lollo, V. et al., 2000. Response latencies to the onset and offset of visual stimuli. *Perception And Psychophysics*, 62(1), pp.218–225.
58. Lopez, L. et al., 2002. Modulation of flash stimulation intensity and frequency: effects on visual evoked potentials and oscillatory potentials recorded in awake, freely moving mice. *Behavioural Brain Research*, 131(1-2), pp.105–114.
59. Lukoyanov, N. V et al., 2000. Synaptic reorganization in the hippocampal formation of alcohol-fed rats may compensate for functional deficits related to neuronal loss. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 20(2), pp.139–48.
60. Marty, V.N. & Spigelman, I., 2012. Long-lasting alterations in membrane properties, K<sup>+</sup> currents, and glutamatergic synaptic currents of nucleus accumbens medium spiny neurons in a rat model of alcohol dependence. *Front Neurosci.*, 6(86), pp.1–15.
61. Maurage, P. et al., 2012. Cerebral effects of binge drinking: respective influences of global alcohol intake and consumption pattern. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 123(5), pp.892–901.
62. Medina, A. & Krahe, T., 2008. Neocortical Plasticity Deficits in Fetal Alcohol Spectrum Disorders: Lessons From Barrel and Visual Cortex. *Journal of neuroscience research*, 86, pp.256–263.

63. Medina, A.E. & Ramoa, A.S., 2005. Early alcohol exposure impairs ocular dominance plasticity throughout the critical period. *Developmental Brain Research*, 157, pp.107–111.
64. Most, D., Ferguson, L. & Harris, R.A., 2014. Molecular basis of alcoholism. In *Hanbook of Clinical Neurology*. pp. 89–111.
65. Mostany, R. & Portera-Cailliau, C., 2008. A craniotomy surgery procedure for chronic brain imaging. *Journal of visualized experiments : JoVE*, 5(12), pp.2–3.
66. Mwanza, J.C. et al., 2008. Depression of the photic after discharge of flash evoked potentials by physostigmine, carbaryl and propoxur, and the relationship to inhibition of brain cholinesterase. *NeuroToxicology*, 29(1), pp.87–100.
67. Nelson, R. et al., 2001. Physiological responses associated with kainate receptor immunoreactivity in dissociated zebrafish retinal neurons : a voltage probe study. *Prog Brain Res*, 131, pp.255–265.
68. Netzeband, J.G. & Gruol, D.L., 1995. Modulatory effects of acute ethanol on metabotropic glutamate responses in cultured Purkinje neurons. *Brain Research*, 688, pp.105–113.
69. Nicolas, S., 1997. On the speed of different senses and nerve transmission by Hirsch (1862). *Psychological research*, 59(4), pp.261–8.
70. Nishikawa, K. et al., 2005. The interaction of noradrenaline with sevoflurane on GABA(A) receptor-mediated inhibitory postsynaptic currents in the rat hippocampus. *Brain Research*, 1039, pp.153–161.
71. Noda, K. et al., 1998. Auditory evoked off-response. *NeuroReport*, 9(11), pp.2621–2625.
72. Padnick, L.B. & Linsenmeier, R.A., 1999. Properties of the flash visual evoked potential recorded in the cat primary visual cortex. *Vision Research*, 39, pp.2833–2840.
73. Pearson, P. & Timney, B., 1999. Alcohol does not affect visual contrast gain mechanisms. *Visual Neuroscience*, 16(4), pp.675–680.
74. Peng, Y. et al., 1995. Distribution of glutamate receptor subtypes in

- the vertebrate retina. *Neuroscience*, 66(2), pp.483–497.
75. Petrenko, A.B. et al., 2014. Defining the role of NMDA receptors in anesthesia: Are we there yet? *European Journal of Pharmacology*, 723, pp.29–37.
  76. Pfefferbaum, A. et al., 1997. Frontal Lobe Volume Loss Observed with Magnetic Resonance Imaging in Older Chronic Alcoholics. *Alcoholism: clinical and experimental research*, 21(3), pp.521–529.
  77. Pinazo-Duran, M.D. & Strömmland, K., 1994. Optic nerve hypoplasia: comparative effects in children and rats exposed to alcohol during pregnancy. *Teratology*, 50(2).
  78. Posner, M.I., 2005. Timing the Brain: Mental Chronometry as a Tool in Neuroscience. *PLoS Biology*, 3(2), p.e51.
  79. Qin, L. et al., 2007. Comparison Between Offset and Onset Responses of Primary Auditory Cortex ON – OFF Neurons in Awake Cats. *J Neurophysiol*, 97, pp.3421–3431.
  80. Rintala, J. et al., 1997. Effects of Lifelong Ethanol Consumption on Cerebellar Layer Volumes in AA and ANA Rats. *Alcoholism: clinical and experimental research*, 21(2).
  81. Salling, M.C. et al., 2014. Archival Report Moderate Alcohol Drinking and the Amygdala Proteome : Identification and Validation of Calcium / Calmodulin Dependent Kinase II and AMPA Receptor Activity as Novel Molecular Mechanisms of the Positive Reinforcing Effects of Alcohol. *Biological Psychiatry*, 79(6), pp.430–442.
  82. Sancho-Tello, M. et al., 2008. Chronic alcohol feeding induces biochemical, histological, and functional alterations in rat retina. *Alcohol and Alcoholism*, 43(3), pp.254–260.
  83. Santerre, J.L. et al., 2014. Metabotropic and ionotropic glutamate receptors as potential targets for the treatment of alcohol use disorder. *Neuroscience*, 280, pp.50–59.
  84. Sato, A., 2016. Interpretation of the causes of instability of flash visual evoked potentials in intraoperative monitoring and proposal of a recording method for reliable functional monitoring of visual evoked

- potentials using a light-emitting device. *J Neurosurg*, 125(4), pp.1–10.
- 85.Schiller, P.H., 1992. The ON and OFF channels of the visual system. *Trends Neurosci.*, 15(3), pp.86–92.
- 86.Serviere, J., Miceli, D. & Galifret, Y., 1977. Electrophysiological correlates of the visual perception of “instantaneous” and “durable.” *Vision Research*, 17(1), pp.65–69.
- 87.Shearer, D.E., Fleming, D.E. & Bigler, E.D., 1976. The Photically Evoked Afterdischarge: A Model for the Study of Drugs Useful in the Treatment of Petit Mai Epilepsy. *Epilepsia*, 17(4), pp.429–435.
- 88.Skalka, H.W., Helms, H. & Holman, J., 1986. Effects of ethyl alcohol on VECP. *Documenta ophthalmologica*, 62(1), pp.47–51.
- 89.Slaughter, M. & Miller, R., 1983a. An excitatory amino acid antagonist blocks cone input to sign-conserving second-order retinal neurons. *Science*, 219(4589), pp.1230–1232.
- 90.Slaughter, M. & Miller, R., 1983b. Bipolar cells in the mudpuppy retina use an excitatory amino acid neurotransmitter. *Nature*, 3030, pp.537–538.
- 91.Sokomba, E. & Osuide, G., 1985. Influence of Acute and Chronic Administration of Ethanol on Photic-Evoked Response in Rats. *Japan. J. Pharmacol*, 39, pp.285–290.
- 92.Spackman, L., Boyd, S. & Towell, T., 2006. Identification and characterization of somatosensory off responses. *Brain research*, 14, pp.53–62.
- 93.Steward, O. et al., 1990. The Process of Reinnervation in the Dentate Gyrus of Adult Rats : Time Course of Increases in mRNA for Glial Fibrillary Acidic Protein. *The Journal of Neuroscience*, 10(7), pp.2373–2384.
- 94.Strother, J.A., Nern, A. & Reiser, M.B., 2014. Direct Observation of ON and OFF Pathways in the Drosophila Visual System. *Current Biology*, 24(9), pp.976–983.
- 95.Tadin, D. et al., 2010. High temporal precision for perceiving event

- offsets. *Vision research*, 50(19), pp.1966–1971.
96. Tanaka, R. et al., 2020. Differential effects of sevoflurane and propofol on an electroretinogram and visual evoked potentials. *Journal of Anesthesia*, 34(2), pp.298–302.
97. Tenkova, T., 2003. Ethanol-Induced Apoptosis in the Developing Visual System during Synaptogenesis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(7), pp.2809–2817.
98. Tenkova, T. et al., 2003. Ethanol-Induced Apoptosis in the Developing Visual System during Synaptogenesis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 44(7).
99. Thomas, J.D., Goodlett, C.R. & West, J.R., 1998. Alcohol-induced Purkinje cell loss depends on developmental timing of alcohol exposure and correlates with motor performance. , pp.159–166.
100. Tomita, H. et al., 2009. Visual properties of transgenic rats harboring the channelrhodopsin-2 gene regulated by the thy-1.2 promoter. *PLOS ONE*, 5(11).
101. Tzambazis, K. & Stough, C.O.N., 2000. Alcohol impairs speed of information processing and simple and choice reaction time and differentially impairs higher-order cognitive abilities. *Alcohol and Alcoholism*, 35(2), pp.197–201.
102. Vardi, N. et al., 1998. Neurochemistry of the mammalian cone “synaptic complex.” *Vision Research*, 38(10), pp.1359–1369.
103. Vengeliene, V. et al., 2008. Neuropharmacology of alcohol addiction. *British journal of pharmacology*, 154(January), pp.299–315.
104. Wang, W. et al., 2018. Focal Gain Control of Thalamic Visual Receptive Fields by Layer 6 Corticothalamic Feedback. *Cerebral Cortex*, 28(1), pp.267–280.
105. Watten, R.G., Magnussen, S. & Greenlee, M.W., 1998. Spatial-frequency discrimination, brain lateralisation, and acute intake of alcohol. *Perception*, 27, pp.729–736.
106. Wilson, G. & Mitchell, R., 1983. The effect of alcohol on the visual and ocular motor system. *Australia Journal of Ophthalmology*,



- 11, pp.315–319.
107. Wilson, J.T., 1983. Effects of stimulus luminance and duration on responses to onset and offset. *Vision Research*, 23(12), pp.1699–1709.
108. Zemon, V., Gordon, J. & Welch, J., 1988. Asymmetries in ON and OFF visual pathways of humans revealed using contrast-evoked cortical potentials. *Visual Neuroscience*, 1, pp.145–150.
109. Zhuang, X. et al., 2012. Differential effects of alcohol on contrast processing mediated by the magnocellular and parvocellular pathways. *Journal of vision*, 12(12), pp.1–13.

## Publikacijos

### Publikacijos disertacijos tema:

1. **Dulinskas R**, Buisas R, Vengeliene V, Ruksenas O. Effect of ethanol on the visual-evoked potential in rat: dynamics of ON and OFF responses. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. (2017); 77(2):190-197.
2. **Redas Dulinskas** and Osvaldas Ruksenas. Modulation of responses to visual stimulus onset and offset by chronic alcohol consumption and withdrawal in the rat visual cortex and lateral geniculate nucleus. *Alcohol* (2020), 85: 101-110.

### Konferencijų pranešimai disertacijos tema

1. **R. Dulinskas**, O. Ruksenas „Effect of nicotine on the rat lateral geniculate body and visual cortex“, FENS Forum 2018, Berlin, Germany, July 07-11, 2018.
2. **R. Dulinskas**, O. Ruksenas „Effect of nicotine on the rat visual cortex visually evoked potentials“, Aspects of Neuroscience 2017, Warsaw, Poland, November 24-26, 2017.
3. O. Ruksenas, **R. Dulinskas**, R. Buišas, V. Vengelienė “Effect of chronic ethanol ingestion on regional neurophysiological function of the brain”, IUPS 38<sup>th</sup> World Congress, Rio de Janeiro, August 1-5, 2017.
4. **R. Dulinskas**, O. Ruksenas „Alcohol differently affects processing of visual stimulus onset and offset“, Aspects of Neuroscience 2016, Warsaw, Poland, November 25-27, 2016.
5. R. Buisas, **R. Dulinskas**, T. Ragauskas, O. Ruksenas ir V. Vengeliene „Effect of chronic ethanol ingestion on regional electrophysiological activity of the rat brain“, FENS Forum, Copenhagen, Denmark, July 2-6, 2016.

6. **R. Dulinkas**, R. Buisas, V. Vengeliene ir O. Ruksenas „Effect of ethanol on the visual-evoked potentials: dynamics of ON and OFF responses“, FENS Forum, Copenhagen, Denmark, July 2-6, 2016.
7. **R. Dulinkas**, R. Buisas, V. Vengeliene ir O. Ruksenas „Differential effect of alcohol on latency and amplitude of visually evoked potentials in rat visual cortex“. *European Society for Biomedical Research on Alcoholism*, Valencia, Spain, September 12–15, 2015.
8. **R. Dulinkas**, R. Buisas, V. Vengeliene ir O. Ruksenas “Effect of alcohol on the rat visual cortex visually evoked potentials”, *FEPS*, Kaunas, Lietuva, August 26-29, 2015.

## Padėka

Norėčiau nuoširdžiai padėkoti savo darbo vadovui Prof. dr. Osvaldui Rukšėnui už tai, kad vedė mane mokslo keliu nuo pat bakalauro iki PhD studijų pabaigos. Esu dėkingas už visas diskusijas, patarimus, mokslinę laisvę, paramą ir palaikymą.

Už patarimus, diskusijas ir visokeriopą pagalbą esu dėkingas savo kolegoms iš Neurobiologijos ir biofizikos katedros. Dviguba padėka Rokui Buišas už buvimą kolega ir geru draugu, už pagalbą ruošiant įrangą eksperimentams, techniniais klausimais, patarimus, diskusijas ir gerą laiką už laboratorijos ribų. Taip pat jaučiu ypatingą padėką Ingai Griškovai-Bulanovai, Valentinai Vengelienei ir Mindaugui Mitkui už pagalbą redaguojant publikacijų rankraščius. Taip pat dėkoju Prof. dr. Aidui Alaburdai ir Doc. dr. Vilmai Kisnierienei už disertacijos tezių rankraščio redagavimą ir vertingų patarimų ir komentarų suteikimą.

Ir svarbiausia, dėkoju Eglei, Edvardui, Justinai, Arvydai, Armandui, Tomui ir kitiems draugams už paramą ir palaikymą.

Redas Dulinskas | Gyvenimo aprašymas

*Gimimo data:* 1990 lapkričio 2

*Telefono nr.:* +370 624 90902

*Email adresas:* redas.dulinskas@gmail.com

## **Išsilavinimas**

- 2015 - dabar PhD studijos, VU, Gyvybės mokslų centras:
  - Biofizika
  - Darbo tema: *Ūmaus ir ilgalaikio alkoholio vartojimo ir abstinencijos poveikis žiurkės regos sukeltiniams potencialams: ON/OFF atsakų analizė.*
  - Darbo vadovas: Prof. dr. Osvaldas Rukšėnas
- 2013-2015 Magistrantūros studijos, VU, Gamtos mokslų fakultetas:
  - Neurobiologija
  - Darbo tema: *Alkoholio poveikis žiurkės regos žievės sukeltiniams potencialams.*
  - Darbo vadovas: Prof. dr. Osvaldas Rukšėnas
- 2009-2013 Bakaluro studijos, VU, Gamtos mokslų fakultetas:
  - Biofizika
  - Darbo tema: *Žiurkės regos žievės sukeltinių potencialų į stimulo įjungimą ir išjungimą tyrimas.*
  - Darbo vadovas: Prof. dr. Osvaldas Rukšėnas

## **Darbo patirtis**

- 2019.10.01-dabar: specialistas Experimentica UAB, Vilnius, Lietuva.
- 2013.07.01-2019.12.31: Laborantas; Vilnius Universitetas, Gyvybės mokslų centras, Neurobiologijos ir biofizikos katedra.

## **Projektai**

- 2019.06.01-12.31: Jaunesnysis mokslo daruotojas projekte: "Targeting the microbiota-gut-brain axis in Alzheimer's disease: the role of the endocannabinoid system".
- 2014.07.01-2016.12.31: Specialistas tyrėjas projekte: "Effect of chronic ethanol ingestion on regional neurophysiological function of the brain".

## **Kvalifikacijos kėlimas**

- 2019.01.16-04.15 mokslinė stažuotė, Okinawa Institute of Science and Technology, Okinava, Japonija.
- 2018.05.04-06 mokslinės dirbtuvės: the Brain-Machine Interface symposium & workshop "Stepping into the Future – a Multi-Disciplinary Approach to Brain-Machine Interface", Vilnius, Lietuva.
- 2018.02.28-03.03 Mokslinis vizitas; National Institute of Mental Health, Praha, Čekija.
- 2018.02.19-23 Žiemos mokykla: "Ethics and Neuroscience" (2,5 ECTS), Humboldt University of Berlin, Berlynas, Vokietija.
- 2016.09.24-10.08 Baigtas kursas „Sensory Ecology“ (6 ECTS) Lund University, Lundas, Svedija.
- 2014.09.01-2015.01.26 Baigtas kursas "LABORATORY ANIMAL SCIENCE"; Vilnius Universitetas, Gamtos mokslų fakultetas, Vilnius, Lietuva. Gautas leidimo, dirbti su laboratoriniais gyvūnais, sertifikatas
- 2014.04.01-06.31 ERASMUS praktika; Werner Reichardt Institute for Integrative Neuroscience, University of Tübingen, Tubingenas, Vokietija.

## **Apdovanojimai**

- LMT (Lietuvos mokslo taryba) stipendija už akademinis pasiekimus (2018);
- FENS-IBRO/PERC stipendija dalyvauti konferencijoje FENS Forum 2018 (2018).
- FENS-IBRO stipendija dalyvauti Žiemos mokykloje "Ethics and Neuroscience" (2017).
- Vilniaus universiteto stipendija už akademinis pasiekimus (2017).
- Magistrantūros studijos baigtos su Magna Cum Laude (2015).

Vilniaus universiteto leidykla  
Saulėtekio al. 9, III rūmai, LT-10222 Vilnius  
El. p.: [info@leidykla.vu.lt](mailto:info@leidykla.vu.lt), [www.leidykla.vu.lt](http://www.leidykla.vu.lt)  
Tiražas 15 egz.