

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
і.м. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**ЧАЙКОВСЬКА ОЛЬГА ВАЛЕРІЇВНА**

УДК 616.212.5:612.821.44:612.08

**ДИСЕРТАЦІЯ**

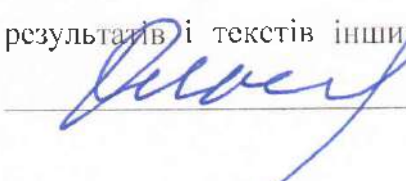
**ЕЛЕКТРИЧНА АКТИВНІСТЬ ТА ГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА  
ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА ПРИ ГОСТРІЙ АЛКОГОЛЬНОЇ  
ІНТОКСИКАЦІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

222 «Медицина»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 О.В. Чайковська

Науковий керівник: Власенко Олег Володимирович, доктор медичних наук,  
професор

Вінниця – 2022

## АНОТАЦІЯ

*Чайковська О.В.* Електрична активність та гістохімічна характеристика латерального септума при гострій алкогольній інтоксикації в експерименті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2022.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню нейрофізіологічних механізмів порушення нейронних мереж при гострій інтоксикації етанолом, однією з наймасовіших психотропних речовин. Епізодичне вживання високих доз алкоголю визначено одним з основних факторів ризику розвитку залежності, що має негативні соціальні й економічні наслідки. Ми висунули гіпотезу відносно участі латерального септума – частини лімбічної системи винагороди, що має зв'язки практично з усіма ключовими зонами, які опосередковують нейроадаптивні зміни при формуванні залежності - в реакції на гостру алкогольну інтоксикацію. Фокусом даного дослідження було встановлення електричних і гістохімічних характеристик латерального септума та їх відповіді на гостру алкогольну інтоксикацію на моделях щурів.

Для реалізації поставленої мети було проведено експериментальне дослідження, в якому ми змоделювали гостру алкогольну інтоксикацію інтраперитонеальним введенням 15 % розчину етанолу. Для аналізу електричної активності латерального септума ми використали методику позаклітинної багатоканальної електрофізіології з імплантованими мікроелектродами. Нітнергічна система латерального септума досліджувалася гістохімічним маркуванням NADPH-діафрази, яка колокалізується з NO-синтазою (NOS), забарвлені структури ідентифікувалися як NOS-позитивні. Блокада нейрональної NOS проводилася селективним інгібітором 7-нітроіндазолом.

У дослідних тварин було записано локальні польові потенціали латерального септума, на основі яких були обраховані й проаналізовані спектри для якісної та кількісної оцінки осциляторної активності. Аналіз проводився у різних частотних зонах для спонтанної активності та на фоні гострої алкогольної інтоксикації. Спектральний аналіз локального польового потенціалу латерального септума виявив найбільш виражені піки в ділянках, які відповідали тета і бета-1 частотним зонам, хоча осциляторна активність фіксувалася для всього досліджуваного спектра частот, як для спонтанної активності, так і під час гострої алкогольної інтоксикації. Було встановлено збільшення потужності для дельта ( $P < 0.05$ ), тета ( $P > 0.05$ ), бета-2 ( $P < 0.05$ ), гамма ( $P < 0.05$ ) частотних зон і зони ультрашвидких осциляцій ( $P < 0.05$ ) та зниження потужності бета-1 ( $P < 0.05$ ) ритму у відповідь на інтоксикацію. Найбільш значимі зміни потужності стосувалися дельта ( $20110 \pm 2442 \text{ мкВ}^2$  для спонтанної активності та  $38362 \pm 5138 \text{ мкВ}^2$  для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ), бета-2 частотної зони ( $151 \pm 7.7 \text{ мкВ}^2$  для спонтанної та  $260 \pm 23.2 \text{ мкВ}^2$  для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ) і ультрашвидких осциляцій  $16.7 \pm 3.9 \text{ мкВ}^2$  для спонтанної активності та  $25.3 \pm 3.3 \text{ мкВ}^2$  для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ). Також відбулося зміщення піку бета осциляцій в низькочастотну ділянку з  $14.77 \pm 0.22 \text{ Гц}$  на  $13.70 \pm 0.12 \text{ Гц}$  ( $P < 0.05$ ). Таким чином було встановлено, що латеральний септум активується вже на самій ранній стадії циклу формування залежності – стадії гострої алкогольної інтоксикації.

Наступним завданням було дослідження особливостей нейронного шуму латерального септума. Для аналізу були побудовані математичні моделі на основі робастної лінійної регресії, які добре описували поведінку нейронного шуму. Аналіз аритмічної активності латерального септума показав, що гостра алкогольна інтоксикація призводила до зміни мозкової динаміки у бік посилення стохастичних процесів. Ми спостерігали збільшення нейронного шуму для всього досліджуваного діапазону частот, оцінене як зниження нахилу

модельованих кривих або параметру  $\beta$  лінійних моделей з  $-2.57 \pm 0.30$ , CI95 (- 2.58 - 2.56) для спонтанної активності і  $-2.15 \pm 0.23$ , CI95 (-2.14 - 2.11) для періоду гострої алкогольної інтоксикації ( $P < 0.05$ ). Реакція ж окремих частотних зон виявила зниження нейронного шуму для дельта ( $P < 0.05$ ), тета ( $P > 0.05$ ) і бета ( $P < 0.05$ ) частотних смуг у порівнянні з фоновою активністю. При цьому ми фіксували індуковане етанолом наростання нейронного шуму в діапазоні гама частот ( $P < 0.05$ ) і для зони ультрашвидких осциляцій ( $P < 0.05$ ). Найбільш значимо гостра алкогольна інтоксикація змінила аритмічну активність у дельта частотній смузі (зміна  $\beta$  з  $-2.74 \pm 0.24$ , CI95(-2.86 -2.62) для фонової активності до  $-3.53 \pm 0.40$ , CI95 (-3.60 -3.46) для активності під дією етанолу ( $P < 0.01$ )) і в області ультрашвидких осциляцій (коефіцієнт  $\beta$  збільшився з  $-2.33 \pm 0.26$ , CI95 (- 2.36 -2.29) для фонової активності до  $-1.47 \pm 0.10$ , CI95 (-1.49 -1.44) після введення етанолу, ( $P < 0.01$ )).

У дослідженні описано нітрегічну систему латерального септума та її реакцію на гостру алкогольну інтоксикацію, а також блокування нейрональної NOS селективним інгібітором 7-нітроіндазолом. В досліджуваній зоні для контрольної групи ми ідентифікували NOS-позитивні клітини й волокна, які були представлені інтенсивно забарвленими великими нейронами зі слабозгалуженими відростками ( $3.05 \pm 0.34$  клітин на зріз), слабозабарвленими середніми/дрібними нейронами з множинними терміналями ( $3.15 \pm 0.31$  клітин на зріз) та групами невпорядкованих нервових волокон. Гостра алкогольна інтоксикація не змінила кількість виявлених крупних NOS-позитивних нейронів ( $3.34 \pm 0.32$  клітин на зріз), але натомість збільшилась кількість забарвлених середніх та дрібних нейронів ( $7.06 \pm 0.67$  клітин на зріз,  $P = 0.0122$ ). На фоні етанолу також встановлено збільшення інтенсивності забарвлення NOS-позитивних нервових волокон. Блокада NO-синтазної системи на фоні гострого введення етанолу призвела до нівелювання ефекту етанолу й до зниження кількості середніх/дрібних нейронів ( $3.08 \pm 0.44$  клітин на зріз,  $P = 0.0421$  у порівнянні з групою з гострою алкогольною інтоксикацією).

Кількість крупних нейронів склала ( $3.00 \pm 0.21$  клітин на зріз) і суттєво не відрізнялася від контрольної групи.

Отримані в ході дисертаційного дослідження дані щодо алкоголь-індукованих змін осциляторної і аритмічної активності латерального септума, які супроводжувалися супутньою активацією нітнергічної системи, підтверджують гіпотезу про залучення даної структури в ранню реакцію центральної нервової системи на алкогольну інтоксикацію не лише в якості релейної станції лімбічної системи, але й на рівні локальних нейронних мереж.

Під час даного дослідження було запропоновано новий термін для отриманих інтрацеребральних записів локального польового потенціалу латерального септума – септограми. Вперше були отримані септограми на фоні гострої алкогольної інтоксикації, вперше описана динаміка аритмічної активності латерального септума та її реакція на гостру алкогольну інтоксикацію, вперше зафіксована реакція нітнергічної системи латерального септума на гостру алкогольну інтоксикацію та селективну блокаду нейрональної NOS 7-нітроіндазолом.

Практичне значення результатів полягає в отриманні доказової бази для доповнення існуючих моделей розвитку алкогольної залежності для стадії гострої інтоксикації. Це дозволило інкорпорувати латеральний септум у нейромережі, які її опосередковують, а нітнергічну систему додати до залучених у процес нейротрансмітерних систем. У рамках дисертаційного дослідження була розроблена система відкритого апаратного забезпечення для багатоканальної електрофізіології у гризунів.

*Ключові слова:* головний мозок, нейродегенеративні хвороби, латеральний септум, гостра алкогольна інтоксикація, нейрони, гістохімічні характеристики, електричні характеристики, локальний польовий потенціал, потужність осциляторних ритмів, септограми, нейронний шум, NO-синтазні нейрони, щури.

## ANNOTATION

*O.V. Chaikovska* The electrical activity and histochemical characteristics of lateral septum during acute alcohol intoxication in experimental study. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the Philosophy Doctor degree in 22 –“Health Care” in speciality 222 –“Medicine”. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, 2022.

This dissertation is devoted to revealing the neurophysiological mechanisms of neural networks disfunction during acute ethanol intoxication that is one of the wide-used psychotropic substance. Episodic consumption of high doses of ethanol is defined as one of the main risk factor of addiction formation that results in negative social and economic consequences. We hypothesized that part of limbic system named lateral septum which has connections with all key brain areas mediated the neuroadaptive changes of addiction would be engaged in the brain reaction on acute alcohol intoxication. This study was focused on electrical and histochemical characteristics of lateral septum and its reactions on acute alcohol intoxication in rat models.

Experimental study was conducted to achieve established goals where acute alcohol intoxication was modelled by intraperitoneal injections of 15% ethanol solution. Multichannel extracellular electrophysiology technique with implanted microelectrodes was used to analyze electrical activity of lateral septum. Nitroergic system of lateral septum was investigated utilizing histochemical mapping of NADPH-diaphorase which is colocalized with NO - synthase (NOS) and staining structures were identified as NOS-positive. Selective inhibitor 7-nitroindazole was used to block neuronal NOS.

Local field potentials of lateral septum were recorded from lateral septum of experimental animals on the basis of which power spectra were calculated and analyzed for qualitative and quantitative assessment of oscillatory activity. Analysis

was done for different frequency bands for spontaneous activity and activity induced by acute alcohol intoxication. Spectral analysis of local field potential of lateral septum showed the most prominent peaks in bands that correspond theta and beta-1 frequency bands. However, the oscillatory activity was detected in the whole analyzed spectrum both for spontaneous activity and for activity induced by acute alcohol intoxication. We found the increase in spectral power for delta ( $P < 0.05$ ), theta ( $P > 0.05$ ), beta-2 ( $P < 0.05$ ), gamma ( $P < 0.05$ ) frequency bands and for ultrafast oscillations ( $P < 0.05$ ) and decrease in spectral power for beta-1 frequency sub-band ( $P < 0.05$ ) as response to acute alcohol intoxication. The most important changes in power was detected in delta ( $20110 \pm 2442 \text{ uV}^2$  for spontaneous activity and  $38362 \pm 5138 \text{ uV}^2$  for acute alcohol intoxication,  $P < 0.05$ ), beta-2 frequency sub-band ( $151 \pm 7.7 \text{ uV}^2$  for spontaneous activity and  $260 \pm 23.2 \text{ uV}^2$  for acute alcohol intoxication,  $P < 0.05$ ) and for ultrafast oscillations ( $16.7 \pm 3.9 \text{ uV}^2$  for spontaneous activity and  $25.3 \pm 3.3 \text{ uV}^2$  for acute alcohol intoxication,  $P < 0.05$ ). Also we detected the shift in the peaks of beta-2 oscillatory activity of low-frequency part of spectrum from  $14.77 \pm 0.22 \text{ Hz}$  to  $13.70 \pm 0.12 \text{ Hz}$  ( $P < 0.05$ ). Therefore, we determined that lateral septum was activated on the early stage of addiction formation cycle – stage of acute alcohol intoxication.

The next goal of this research was to investigate neural noise characteristics in lateral septum. Mathematical models based on robust linear regression that fit the behavior of neural noise well were used to achieve this goal. Analysis of arrhythmic activity of lateral septum revealed that acute alcohol intoxication leads to change in brain dynamics increasing the stochastic processes. We observed an increase in neural noise for all analyzed spectrum that was estimated as decrease in slope of modelled lines or parameter  $\beta$  in linear models (from  $-2.57 \pm 0.30$ , CI95 (-2.58 - 2.56) for spontaneous activity and  $-2.15 \pm 0.23$ , CI95 (-2.14 - 2.11) for period of acute alcohol intoxication ( $P < 0.05$ )). Reaction of specific frequency bands showed decrease in neural noise for delta ( $P < 0.05$ ), theta ( $P > 0.05$ ) and beta ( $P < 0.05$ ) frequency bands. In contrast, we recorded an increase in neural noise of gamma frequency band ( $P < 0.05$ ) and in range of ultrafast oscillation ( $P < 0.05$ ) as response to acute ethanol

intoxication. The most significant changes in arrhythmic activity induced by acute alcohol intoxication were observed in delta frequency range (change in  $\beta$  from  $-2.74 \pm 0.24$ , CI95(-2.86 -2.62) for spontaneous activity to  $-3.53 \pm 0.40$ , CI95 (-3.60 -3.46) for activity during acute alcohol intoxication ( $P < 0.01$ )) and ultrafast range (coefficient  $\beta$  increased from  $-2.33 \pm 0.26$ , CI95 (- 2.36 -2.29) for spontaneous activity to  $-1.47 \pm 0.10$ , CI95 (-1.49 -1.44) after ethanol injection, ( $P < 0.01$ )).

Nitroergic system of lateral septum was described in this research as well as its reaction on acute alcohol intoxication and on blockage of neuronal NOS by selective inhibitor 7 - nitroindazole. We identified NOS-positive cells and fibers that were presented by intensively stained large neurons ( $3.05 \pm 0.34$  cells per slice), loosely stained medium/small neurons ( $3.15 \pm 0.31$  cells per slice) and groups of unordered neural fibers in lateral septum. The number of large NOS-positive neurons did not change under the action of acute alcohol intoxication ( $3.34 \pm 0.32$  cells per slice), however the number of stained medium/small sized neurons has increased ( $7.06 \pm 0.67$  cells per slice,  $P = 0.0122$ ). During acute ethanol intoxication an increase in density and intensity of NOS-positive neural fibers was found. Blockage of NO-system eliminated the effect of ethanol and the number of NOS-positive medium/small neurons dropped ( $3.08 \pm 0.44$  cells per slice,  $P = 0.0421$  compared to the group with acute alcohol intoxication). Number of large neurons in the group with NOS blockage was no different from the level of control group ( $3.00 \pm 0.21$  cells per slice).

The data about alcohol-induced changes in oscillatory and arrhythmic activity in lateral septum together with the activation of nitroergic system received during this dissertational research prove the hypothesis that lateral system is involved in early reaction of central nervous system during acute alcohol intoxication not merely as relay station of limbic system, but also on the level of local neural networks.

We proposed new term septograms for intracerebral recordings of local field potentials from lateral septum. For the first time, septograms were recorded during acute alcohol intoxication. In addition, the arrhythmic activity of lateral septum was described and its reaction on acute alcohol intoxication. The response of nitroergic



system on acute alcohol intoxication was registered and on selective blockage of neuronal NOS by 7-nitroindazole in lateral septum.

Practical impact of this dissertation is to update the current models of alcohol addiction for the stage of acute alcohol intoxication using obtained data. A comprehensive analysis of experimental data allowed to incorporate lateral septum in neuronal network that mediates the brain reaction to acute alcohol intoxication and nitrenergic system in other involved neurotransmitter systems. In the framework of this dissertational study it was developed the open-source acquisition system for multichannel electrophysiology in rodents.

*Key words:* brain, neurodegenerative disorders, lateral septum, acute alcohol intoxication, neurons, histochemical characteristics, electrical characteristics, local field potential, power of oscillatory rhythms, septograms, neural noise, NO-synthesized neurons, rats.

### **Список публікацій здобувача**

#### **Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:**

1. **Chaikovska, O. V.**, Rokunets, I. L., Dovhan, O. V., & Vlasenko, O. V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology*, 53(1), 30-40. <https://doi.org/10.1007/s11062-021-09910-8> (Дисертантці належить участь у проведенні наукових досліджень, опис та аналіз отриманих результатів, написання статті)
2. **Chaikovska, O. V.** (2021). Effect of acute alcohol intoxication on scale-free neural activity in the lateral septum in rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 403-407. <https://doi.org/10.15421/022155>
3. **Chaikovska, O. V.**, Dovhan, O. V., Rokunets, I. L., Nechiporuk, V. M., & Vlasenko, O. V. (2021). Histochemical characteristics of nitrenergic neuronal system during acute alcohol intoxication and nNOS blockage in the rat lateral septum. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 25(3), 369-375.

[https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25\(3\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25(3)-03) (Дисертантці належить участь у проведенні наукових досліджень, опис та аналіз отриманих результатів, написання статті)

4. **Чайковська, О. В.** (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104. (Дисертантці належить участь у проведенні наукових досліджень, опис та аналіз отриманих результатів, написання статті).

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

5. **Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O.** (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>

6. **Chaikovska, O., Dovgan, O., Rokunets, I. & Vlasenko, O.** (2021). Effect of acute alcohol intoxication on 1/f neural noise in lateral septum. Book Of Abstracts. FENS Regional Meeting, Krakow, Poland, 25 – 27 August, 2021, 101.

7. **Чайковська, О.В.** (2021). Зміни локального польового потенціалу латерального септума в області бета частот під час гострої алкогольної інтоксикації. Матеріали XVIII міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021», Вінниця, 15-17 квітня 2021 р., Вінниця: Міністерство охорони здоров'я України, Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова, 557-558.

8. **Чайковська, О., Пономаренко, О., Довгань, О., Рокунець, І., Павлов, С., Власенко, О., & Кривов'яз, О.** (2020). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents.

Матеріали XLIX науково-технічної конференції підрозділів ВНТУ, Вінниця, 27-28 квітня 2020 р.

9. **Chaikovska, O. V.** (2019). Backpack-type multichannel electrophysiology system for freely behaving rodents. Book Of Abstracts. FENS-SFN “BRAIN READING AND WRITING: NEW PERSPECTIVES OF NEUROTECHNOLOGY”, 2-8 June 2019, Bertinoro University Centre (CeUB), Italy, 36-37.

## ЗМІСТ

	стор.
<b>АНОТАЦІЯ</b>	2
<b>ЗМІСТ</b>	12
<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ</b>	14
<b>ВСТУП</b>	16
<b>РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ</b>	20
1.1. Проблематика вживання алкоголю	20
1.2. Сучасний погляд на нейрофізіологічні зміни ЦНС викликані алкоголем. Роль мозкових структур, нейротрансмітерів та гормонів у формуванні алкогольної залежності.	21
1.3 . Терапія алкогольної залежності	26
1.4. Латеральний септум: огляд, функції та роль в контексті порушень вживання алкоголю	27
1.5. Система оксиду азоту: загальні відомості, зміни під час розвитку аддикцій і фармакологічного блокування	31
1.6. Методи нейроелектрофізіології	35
1.7. Нейроелектрофізіологічні маркери алкогольної залежності та інших залежностей	37
<b>РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	42
2.1. Експериментальні тварини	42
2.2. Схема, дизайн експерименту і склад експериментальних груп	43
2.3. Дослідження електричної активності латерального септума: імплантація електродів, реєстрація сигналу	45
2.4. Запис, цифрова обробка, аналіз і статистична обробка локального польового потенціалу	50

2.5. Запис, цифрова обробка, аналіз і статистична обробка нейронного шуму	53
2.6. Гістологічні приготування, гістохімія і мікроскопія зразків, статистичний аналіз даних	57
<b>РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ ЛОКАЛЬНОГО ПОЛЬОВОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА ПІД ЧАС ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ</b>	59
<b>РОЗДІЛ 4 ОСОБЛИВОСТІ АРИТМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ (НЕЙРОННОГО ШУМУ) ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА ПІД ЧАС ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ</b>	70
<b>РОЗДІЛ 5 ГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ NO- СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА НА ФОНІ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПРИ БЛОКАДІ</b>	82
<b>АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	89
<b>ВИСНОВКИ</b>	108
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	111
<b>ДОДАТКИ</b>	142

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

- ГАІ – гостра алкогольна інтоксикація
- ГАМК – гамма-аміномасляна кислота
- ЕЕГ – електроенцефалографія
- ЕКоГ – електрокортикографія
- ЛПП – локальний польовий потенціал (local field potential)
- МЕГ – магнітоенцефалографія
- ЦНС – центральна нервова система
- AUDs – зловживання алкоголем (alcohol use disorders)
- BNST – опорне ядро термінальної смужки (*bed nucleus stria terminalis*)
- CeNA – центральне ядро амігдали
- CI – довірчий інтервал (confidence interval)
- CPP – реакція переваги місця (conditional place preference)
- DAQ – модуль збору даних (Data Acquisition Module)
- DBS – глибока стимуляція мозку (deep brain stimulation)
- ERO - осциляції, пов'язані з подією (event related oscillations)
- ERP – потенціали, пов'язані з подією (event related potentials)
- IRASA – автоспектральний аналіз з іррегулярним ресемплінгом (Irregularly Resampled AutoSpectral Analysis)
- LFP – локальний польовий потенціал (local field potential)
- LS – латеральний септум
- LTP – довготривала потенціація (long-time potentiation)
- MUA – Multi Unit Activity
- NAcc – прилегле ядро (*nucl. accumbens*)
- NO – оксид азоту
- NOS – синтаза оксиду азоту
- PSD – спектральна густина потужності (power spectral density)

TMS – транскраніальна магнітна стимуляція (transcranial magnetic stimulation)

VTA – вентральна ділянка покришки (ventral tegmental area)

UAD – стани Up And Down

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Зловживання речовинами, які здатні викликати залежність, згідно визначення американської психіатричної асоціації, це комплексні стани, що супроводжуються неконтрольованим споживанням відповідних психотропних речовин, незважаючи на негативні наслідки. Стійкий крайній ступінь зловживання переходить у залежність. Алкоголь є однією з найбільш масових психотропних речовин, яка є у вільному доступі й здатна викликати залежність. З вживанням пов'язаний, як ризик розвитку залежності, так і розвиток низки супутніх захворювань і травм [233]. З огляду на велику соціальну значимість проблеми аддикцій – тут окрім самих пацієнтів страждають також їх сім'ї, економічний аспект, йдуть активні дослідження цієї патології, які в перспективі мають дати шляхи терапевтичного впливу й корекції. Однак, ці задачі наразі ще не вирішені.

Сучасні уявлення про формування залежності розглядають її, як серію нейропластичних адаптивних змін, які формуються у циклі залежності через ряд послідовних стадій [7]. Епізодичне вживання високих доз алкоголю і асоційована з цим стадія гострої алкогольної інтоксикації (ГАІ) – один із основних факторів ризику розвитку алкогольної залежності [202]. Центральною ланкою патогенезу є зміни в нормальній роботі й опрацюванні стимулів лімбічною системою, системою винагороди і ділянками фронтальної кори.

Латеральний септум (LS) ймовірно бере участь у всіх трьох стадіях формування залежності – гострої алкогольної інтоксикації, стадії відміни і стадії пошуку/рецидиву, як релейна станція лімбічної системи, як інтегратор мотивації, емоцій, цілеспрямованої поведінки та як структура, що входить у нейромережі, відповідальні за створення зв'язків стимул-контекст. Досліджень для негайних реакцій LS на психотропні речовини набагато менше, ніж для більш пізніх стадій. У контексті формування алкогольної залежності є потреба в з'ясуванні аспектів участі LS у ранній стадії ГАІ.



**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана в рамках ініціативної НДР Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова МОЗ України: «Електрична активність та гістохімічна характеристика латерального септума при гострій алкогольній інтоксикації в експерименті», номер держреєстрації 0121U112773. Дисертантка є виконавцем вищезазначеної теми.

**Мета дослідження.** Встановити особливості електричної та гістохімічної активності латерального септума на стадії гострої алкогольної інтоксикації.

Для реалізації поставленої мети були вирішені наступні **завдання**:

1. Встановити особливості локального польового потенціалу латерального септума для фонові активності та активності під час гострої алкогольної інтоксикації.

2. Оцінити зміну характеристик нейронного шуму латерального септума для фонові активності та під час гострої алкогольної інтоксикації.

3. Описати нітрергічну систему латерального септума: фонову активність, відповідь на гостру алкогольну інтоксикацію та блокаду нейрональної NO-синтази.

*Об'єкт дослідження* – механізми, які опосередковують нейронні реакції мозкових структур на гостру алкогольну інтоксикацію.

*Предмет дослідження* - характеристики функціонального стану нейронів латерального септума на гостру алкогольну інтоксикацію: електрична активність, спектральна густина потужності локального польового потенціалу, частотно-часові параметри септограм, спектральна густина потужності нейронного шуму й реакції нітрергічної системи.

*Методи дослідження*: електрофізіологічний (реєстрація електричної активності латерального септума імплантованими мікроелектродами) – для реєстрації електричної активності латерального септума та її відповіді на гостру алкогольну інтоксикацію); гістохімічні методи – для маркування NO-синтазної системи латерального септума та її відповіді на гостру алкогольну інтоксикацію

та блокаду нейрональної NO-синтази; мікроскопічний метод – для ідентифікації NO-синтазних структур латерального септума; цифрова обробка сигналу – для отримання спектральних та часових характеристик локального польового потенціалу та нейронного шуму; методи математичної статистики (регресійні методи для побудови моделей нейронного шуму, статистичні тести для виявлення різниці між отриманими вибірками даних, оцінки P-value та CI).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше описаний вплив гострої алкогольної інтоксикації на осциляторну активність латерального септума, вперше отримано й описано нейронний шум в ділянці латерального септума й проаналізовано його зміну під час гострої алкогольної інтоксикації. У моделях на щурах вперше описана рання реакція нітратної системи латерального септума на гостру алкогольну інтоксикацію та можливість її блокування селективним інгібітором 7-нітроіндазолом. У роботі експериментально доведено залучення латерального септума в стадію гострої алкогольної інтоксикації

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати цього дослідження розширюють теоретичні уявлення про механізми гострої алкогольної інтоксикації. На основі отриманих даних доповнено схему нейромережі, яка формується при відповіді ЦНС на стадії гострої алкогольної інтоксикації із залученням зони латерального септума. Також доведено, що нітратна нейротрансмітерна система також бере участь у стадії гострої алкогольної інтоксикації, а її блокування – є можливим таргетом впливу. Результати впроваджено у навчальний і науковий процес кафедри нормальної фізіології, кафедри психіатрії, наркології та загальної і медичної психології ФПО, кафедри біологічної фізики і медичної апаратури ВНМУ ім. Пирогова МОЗ України, кафедри фізіології з основами біоетики і біобезпеки ТНМУ ім. І. Горбачевського МОЗ України, інституту фізіології імені О.О. Богомольця.

**Особистий внесок здобувача.** Авторкою проведено розробку основної наукової ідеї, аналіз літератури відповідно до теми дисертації, самостійне формулювання мети й завдань дослідження, планування дизайну експериментів.

У рамках дослідження здобувачка розробила й спроектувала установку для реєстрації електричної активності мозкових структур. Авторка провела всю серію експериментів, самостійно виконала аналіз отриманих даних, описала результати експериментів. На основі даних досліджень було написано й підготовлено до друку низку наукових статей. Результати були представлені у вигляді доповідей на профільних зарубіжних та вітчизняних конференціях. Дисертантка оформила проведене дослідження у манускрипт дисертаційної роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Результати даного дослідження були представлені на науковій школі “Brain Reading And Writing”, Bertinoro, Italy (2019); Науково-технічній конференції підрозділів Вінницького національного технічного університету, Вінниця, Україна (2020); XIII Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку - 2021», Вінниця, Україна (2021); міжнародній регіональній конференції Federation of European Neuroscience Annual Regional Meeting, Krakow, Poland (2021); міжнародній науковій конференції Aspects of Neuroscience: Xth Edition, Warsaw, Poland (2021).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць (серед яких 4 – самостійні). Чотири статті за матеріалами дисертації опубліковано в фахових виданнях України (з них 2 статті індексується в наукометричних базах Scopus і Web of Science), 1 стаття опублікована у закордонному виданні (Польща).

**Структура і обсяг дисертації.** Дисертація представлена українською мовою на 149 сторінках (110 сторінок залікового машинописного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, матеріалів і основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку із 242 використаних джерел, а також двох додатків. Дисертація ілюстрована 35 рисунками та містить 6 таблиць.

## РОЗДІЛ 1

### ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

#### 1.1. Проблематика вживання алкоголю

Алкоголізм або зловживання алкоголем (AUDs – alcohol use disorders, згідно нової редакції діагностичного статистичного мануалу DSM-V) – це хронічне захворювання, пов'язане з адаптивними змінами мозку, переходом від ситуативного вживання алкоголю до алкогольної залежності з епізодами рецидивів навіть після періодів тривалої абстиненції [1].

AUDs несе значне економічне та соціальне навантаження [2, 4]. Біля 5.1% загального тягаря хвороб та 5.3 % усіх смертей пов'язано з вживанням алкоголю [2, 3], яке також вважається фактором ризику більш ніж 200 хвороб та асоційованих із вживанням травм. Гостра алкогольна інтоксикація (ГАІ) за даними дослідження по вживанню психотропних речовин [156] призвела до смерті і травматизму, порушень дихання, транспортних аварій, агресивної поведінки у десятків тисяч людей тільки у 2015 році в США. Перехід від вживання до залежності має ще більше негативних наслідків, оскільки створює додаткове постійне навантаження на систему охорони здоров'я, пов'язане з лікуванням супутніх патологій і травм, роботою спеціалістів, психологів, психіатрів та наркологів.

Етіологія хвороби включає, як генетичне, епігенетичне підґрунтя, індивідуальний розвиток у пренатальному періоді і постнатальному періоді так і фактори впливу зовнішнього середовища [6]. Погіршує перебіг хвороби і безпосередньо пряма токсична дія етанолу та його метаболітів на центральну нервову систему (ЦНС).

Одним із основних факторів ризику розвитку AUDs – є ситуативне вживання високих доз алкоголю [202]. В процесі розвитку AUDs відбувається ряд нейропластичних адаптивних змін мозку, які відповідають за поведінкове переключення від епізодичного вживання до стійкої звички, при якій хворі вживають алкоголь, не зважаючи на негативні наслідки для здоров'я і погіршення якості життя [5].

## 1.2. Сучасний погляд на нейрофізіологічні зміни ЦНС викликані алкоголем.

Роль мозкових структур, нейротрансмітерів та гормонів у формуванні алкогольної залежності.

На сьогоднішній день розвиток AUDs розглядається в рамках циклу Мура або циклу формування залежності (рис.1.1), в якому виділяють три стадії:

I. Стадію вживання/гострої інтоксикації/запою

II. Стадію відміни/негативного афекту

III. Стадію тривоги/очікування/жаги/рецидиву

На кожній зі стадій ціла низка ділянок центральної нервової системи зазнає нейроадаптивних змін. Ключовим моментом при розвитку залежності є зміни мотивації, щодо нормальних стимулів-винагороди і алкоголю. В контексті поведінкової нейробиології, на ранніх стадіях формування залежності домінують механізми позитивного підкріплення, на пізніх – негативного. Зміни мотивованої поведінки на рівні ЦНС опосередковуються змінами нормального функціонування всієї системи винагороди. Драйвером цих процесів – є перебудова сигналіngu в нейромережах лімбічної системи, базальних гангліях і корі, які закріплюються вищезгаданими нейропластичними змінами. З точки зору структурних рівнів дана патологія є багаторівневою і задіює епігенетичні, клітинні, молекулярні механізми і зміну сталих нейромереж в ЦНС.

В основі переходу від вживання алкоголю до неконтрольованої залежності вважається задіяним низка зон мозку і медіаторних систем, які підсумовані в таблиці 1 за даним дослідження [7]:

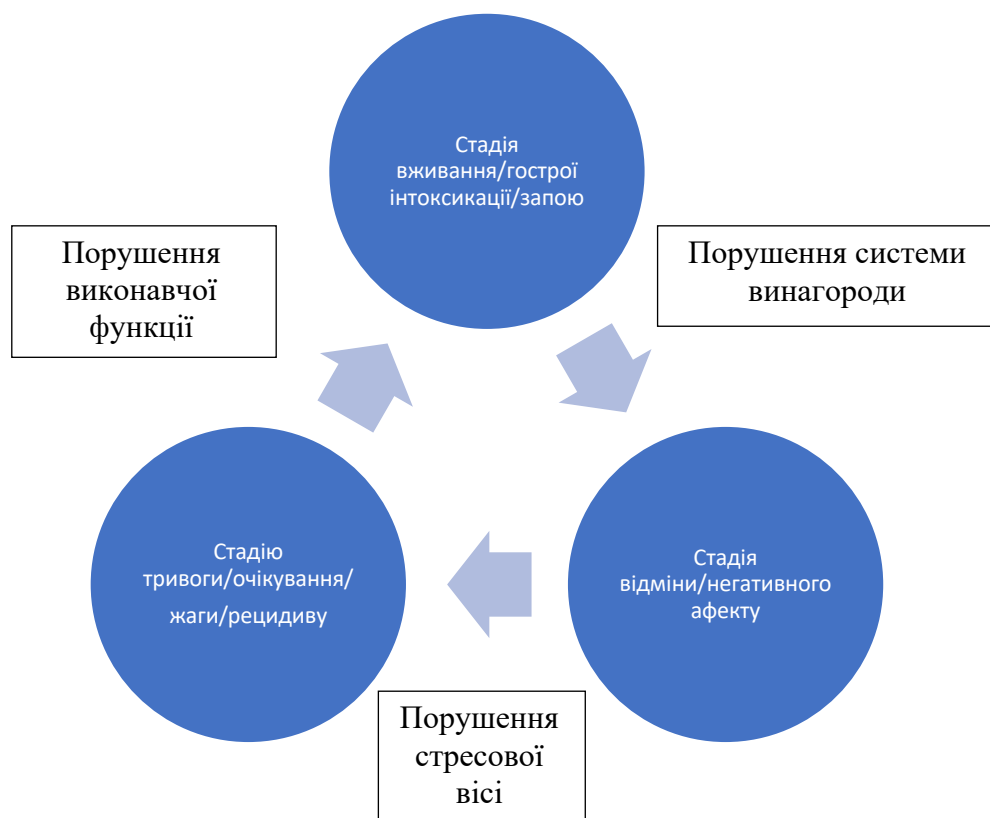


Рис. 1.1 Схематичне зображення циклу розвитку залежності (циклу Мура) адаптоване з роботи [22].

Під час першої стадії циклу, стадії гострої алкогольної інтоксикації, яка є фокусом цього дослідження, відбувається переоцінка значущості спочатку нейтральних стимулів, асоціація їх з алкоголем і наділення цих стимулів спонукаючою значущістю. Гостра алкогольна інтоксикація супроводжується гедоністичними позитивними відчуттями, які спрацьовують як позитивне підкріплення. В опосередкуванні підкріплючої дії алкоголю ключовою зоною вважається мезолімбічна дофамінова система [8], а нейромедіатор дофамін, виділення якого стимулює алкоголь, запускає неймережі позитивного

підкріплення. При цьому, хоча дофамін і є найбільш вагомою причиною алкоголь-асоційованих змін, однак не єдиною. Були описані контури паралельного дофамін-незалежного підкріплення, яке реалізується на інших рівнях і структурах лімбічної системи - *NAcc*, *CeNA* та вентрального паллідуму [6, 7, 8].

Таблиця 1.1

**Ділянки ЦНС та нейротрансмітери,  
які задіяні у циклі формування залежності**

Стадія циклу залежності	Зони мозку та медіаторні системи, які зазнають адаптивних змін
I стадія: вживання/гострої алкогольної інтоксикації/запою	Мезолімбічна дофамінова система, вентральна область покривки ( <i>VTA</i> ), центральне ядро амігдали ( <i>CeNA</i> ), прилегле ядро ( <i>NAcc</i> ), дорзальний стріатум, гіпокамп
	Дофамін, ГАМК, серотонін, опіоїдні пептиди, ацетилхолін, глутамат, ендоканабіноїди
II стадія: відміни/негативного афекту	Розширена амігдала ( <i>ExA</i> ), латеральна хабенула ( <i>LH</i> ), опорне ядро термінальної смужки ( <i>BNST</i> ), латеральний септум ( <i>LS</i> ), гіпокамп
	Кортикотропін-релізінг фактор, динорфін, норадреналін, орексін, субстанція Р, дофамін, серотонін, нейропептид Y, ендоканабіноїди, окситоцин
III стадія: тривоги/очікування/жаги	Медіальна префронтальна кора ( <i>mPFC</i> ), <i>NAcc</i> , вентральний паллідум, базолатеральна амігдала, інсула, гіпокамп
	Дофамін, глутамат, орексин, серотонін, кортикотропін-релізінг фактор

Пусковою стартовою зоною в реалізації підкріплюючого ефекту алкоголю вважається *VTA* – це так звана, дофамінова активація та з іншої сторони – дофамін-незалежна *NAcc*-модульована активація, яка опосередковується ГАМК<sub>A</sub> (гамма-аміномасляна кислота) рецепторами [5]. *VTA* та *NAcc* тісно зв'язані з іншими зонами, які також активуються на стадії ГАІ, і чия роль описана у процессингу ефектів алкоголю і пов'язаних з ним стимулів, такими як гіпокамп, амігдала, *PFC* та системою базальних гангліїв [7]. Однак, хоча специфічне руйнування дофамінергічних зон блокувало підкріплюючу дію кокаїну та амфетаміну це не призводило до зниження вживання алкоголю у тваринних моделях алкоголізму [10]. Цей факт доводить провідну роль дофамін-незалежних механізмів у випадку алкоголю, які опосередковуються ГАМК<sub>A</sub> рецепторами за участі *NAcc* і амігдали [11]. *NAcc* приймає інформацію від амігдали, *PFC*, гіпокампу, і після формування «мотивації» передає в екстрапірамідну систему, яка відповідає за моторні компоненти поведінки. В цьому ланцюзі не описано функціональну роль LS, який має зв'язок з усіма описаними структурами, і також вважається однією з релейних станцій лімбічної системи винагороди. Гіпотеза про участь LS на всіх стадіях циклу Мура є логічною, враховуючи вже наявні, хоч і розрізнені дані, щодо впливу фармакологічних інтервенцій і пошкоджень LS на різні аспекти аддикцій, анатомічне розташування септальної зони і її зв'язки з усіма вищезгаданими структурами, які задіяні у формуванні відповіді ЦНС на алкоголь [45].

II стадію відміни/негативного афекту історично розглядали у розрізі фізичних та фізіологічних змін і симптомів, що характерні для гострої абстиненції – гіперактивації автономної нервової системи. Вважалося, що в розвитку залежності і подальшому бажанні вживати психотропні речовини ключову роль відіграють негативні фізіологічні симптоми і негативний афект – ряд негативних емоційних станів, і відповідно, бажання їх полегшити - класична біхевіористична модель негативного підкріплення. На цій гіпотезі,



наприклад, засноване лікування героїнової залежності метадоном [12]. Пізніше було доведено, що нейроадаптивні зміни більш складні, і призводять не тільки до транзиторних гострих симптомів відміни, а й до тривалих персистуючих негативних афективних станів та зміни самого формування мотивації [13]. Сучасний погляд описує абстиненцію в парадигмі другої стадії циклу Мура - стадії відміни-негативного афекту. Ця стадія характеризується рядом поведінкових змін – ангедонією, хронічною втомою, дратівливістю, зниженим настроєм, зниженням мотивації до нормальних стимулів, посиленою реакцією на стрес. При переході від вживання до залежності відбувається збільшення споживання алкоголю [14]. На цій стадії фізіологічні механізми вже адаптувалися до функціонування на фоні прийому алкоголю, тому елімінація причини адаптації – алкоголю, викликає ряд негативних феноменів, відомих як синдром відміни і абстиненція. Прикладами таких адаптацій є зниження дофамінергічного і серотонінового сигналіngu, які при відміні алкоголю спричиняють негативні афективні явища [15, 16], в основі яких лежить зміна чутливості і кількості відповідних рецепторів.

Також на стадії негативного афекту змінюється реактивність нейрогуморальних систем відповіді на стрес. Обидві стресові системи – гіпоталамо-гіпофізарно-адреналова вісь і мозкова стрес-система, опосередкована кортикотропін-релізінг фактором зазнають суттєвих змін [17, 18, 19]. Негативний афект, що лежить в основі негативного підкріплення, є наслідком адаптації стресової системи і її взаємодії з системою, яка відповідає за гедоністичні відчуття. Розширена амігдала, що включає *CeNA*, *BNST*, перехідну зону медіального *NAcc* ймовірно відповідають за цю інтеграцію [20, 21].

III стадія тривоги/очікування/жаги: зміни, які закріплюються на цій стадії є ключовими в розвитку рецидивів. Терапія AUDs має бути спрямована на контроль реактивації поведінки, направленої на пошук нової дози після стадії тривалої відміни. Загальноприйнятий погляд на нейропластичне підґрунтя цієї

фази віддає головну роль збуджуючим глутаматергічним проєкціям від *PFC* в *ВТА*, які контролюють активність дофамінергічних нейронів, які в свою чергу іннервують базальні ганглії-таламо-кортикальну систему [22].

Стадію очікування/жаги/рецидиву балансують дві системи. Перша – “старт-система”, яка запускає жагу/бажання, у випадку AUDs – алкоголю, через раніше сформовані звички, закріплені в нейромережах базальних гангліїв. Опонуюча першій система починається від вентромедіальної частини *PFC*, яка пригнічує гіперактивні стріатум, *CeNA*, інсулу і поясну кору [23, 24].

Загальна картина складається такою, що під час третьої стадії циклу Мура спостерігається гіперактивація зон лімбічної системи, які забезпечують негативний афект, формуючи при цьому відповідний емоційний стан і інтегрують емоції і поведінку. Паралельно спостерігається гіпоактивація систем, які в нормі є стримуючими, щодо невідповідної в даному контексті поведінки – *PFC* [25, 26, 27, 28]. *LS* є ділянкою, яка за реципрокним механізмом працює разом з мигдалиною, контролюючи тривожність [30, 31, 32], яка є тригером рецидивів для всіх видів залежностей, а також центром, задіяним у формування емоцій і мотивованої поведінки [33, 34].

Наявні дані говорять про участь *LS* у відповіді у формуванні алкогольної залежності в моделях хронічного вживання [29], але без вказання чітких механізмів, як і ролі в ГАІ. Це відкриває широке поле для подальших досліджень в напрямку встановлення місця *LS* в процесах формування залежності, починаючи зі стартової точки – гострої інтоксикації у випадку алкоголю чи першої дози для інших психотропних речовин.

### 1.3. Терапія алкогольної залежності

AUDs як комплексна проблема вимагає комплексного підходу в терапії. Лікування AUDs відбувається по трьом основним напрямкам - психотерапія, психосоціальна терапія та фармакотерапія. На сьогоднішній день тільки три

препарата дозволені управлінням з продовольства і медикаментів США для лікування AUDs – дісульфірам (інгібітор алкогольдегідрогенази), акампростат (точний механізм дії не встановлено, вважається, що препарат знижує вживання алкоголю, модулюючи активність глутаматергічної системи) і налтрексон (антагоніст мю, каппа і дельта опіоїдних рецепторів) [35].

При відсутності дієвої фармакотерапії і враховуючи складність патології дослідження не обмежуються областю фармакології. З розвитком технік стимуляції мозку, як прямої інвазивної (імплантовані мікроелектроди), так і неінвазивної (транскраніальна магнітна стимуляція, TMS), вимальовується новий перспективний напрямок в діагностиці, контролі перебігу та терапії AUDs – безпосередній вплив на електричну активність мозку, який міг би усунути чи компенсувати вищеописані адаптивні зміни. Для розробки режимів стимуляції необхідно точно встановити нервові контури і структури, втягнуті у формування залежності на кожній із стадій, їх функціональне значення, паттерни активності відповідних зон мозку та особливості їх функціонування для різних стадій хвороби.

#### 1.4. Латеральний септум: огляд, функції та роль в контексті порушень вживання алкоголю

Септум або септальна зона – це частина медіальної поверхні лобової частки мозку, яка знаходиться під мозолистим тілом напроти термінальної пластинки. Ця область мозку є частиною лімбічної системи і системи винагороди [234]. Септальна зона має два підрозділи – латеральний септум і медіальний септум. Згідно анатомічної класифікації у людей латеральний септум відповідає бічному перегородковому ядру (*nucleus septalis lateralis*) [235].

LS відіграє визначну роль у формуванні емоцій [34, 57, 60], харчовій поведінці [56], відповідях на стрес [30, 32], бере участь у реалізації багатьох високорівневих функцій мозку, таких як пам'ять і навчання [58, 59], формуванні мотивації і цілеспрямованої поведінки [33], контролі локомоції і навігації під час мотивованої поведінки [55], контролі агресії і страху [48, 50], супресії негативних емоційних станів [32, 60], створенні асоціацій стимул-контекст-винагорода [32, 36, 61]. LS також регулює поведінкові прояви депресії, де знижена активність нейронів LS відповідає депресивному фенотипу, а підвищена – антидепресивному [34].

Анатомічно септальну область поділяють на латеральний септум (LS) і медіальний септум. На основі аналізу цитоархітекtonіки в LS виділяли дорзальну, вентральну і проміжну частини [38]. Пізніше поділ LS був переглянутий згідно нових даних щодо іммуногістохімічної оцінки відповідно до типу мРНК, яку експресували нейрони області і були виділені каудальна (соматостатин), ростральна (нейротензин і енкефалін) і вентральна (естроген) частини [39]. Суттєва різниця між областями визначається і щодо їх нейромедіаторних систем. Нейрони LS переважно відносяться до ГАМКергічних, тоді як, наприклад, в медіальному септумі переважають глутаматергічні і холінергічні нейрони [40, 41, 42]. Щодо афферентних нейромедіаторних систем, то LS отримує норадренегічні входи від блакитної плями, холінергічні від латеродорсального ядра покривки, дофамінергічні від *MTA*, глутаматергічні від гіпокампу [34, 43, 44].

LS має зв'язки майже з усіма ключовими центрами, які описані як такі, що беруть участь у процесі формування залежності (Див. табл. 1), спрощена діаграма зв'язків представлена на рис. 1.2, адаптована з дослідження Deng з колегами [45].



**Рис. 1.2** Спрощена діаграма аферентних і еферентних зв'язків латерального септума (LS): *PFC* – префронтальна кора, *MS/DBB* – медіальний септум/діагональна смужка Брока, *PAG* – центральний сірий, *BNST* – опорне ядро термінальної смужки, *VTA* – вентральна область покришки.

LS посиляє проєкції в *NAcc*, *BNST*, мигдалину, гіпоталамус, таламус, гіпокамп, *VTA*, ядра шва і приймає від *VTA*, гіпокампа, *BNST*, мигдалини, *PFC*, енторинальної кори, блакитної плями, латеродорзального ядра покришки, діагональної смужки Брока, таламусу, ядер шва. Повна картина, яка б розкрила функціональне значення цих зв'язків ще має бути досліджена і описана.

Складність дослідження LS полягає у тому, що роль цієї зони у багатьох нейрофізіологічних процесах і поведінкових феноменах не є однозначною і очевидною. Безпосереднє ураження LS не викликає вираженого неврологічного дефіциту, але призводить до змін поведінки у експериментальних тварин. При ураженнях LS спостерігалось зниження стресостійкості у щурів [32], порушення робочої пам'яті та орієнтування у тестах з лабіринтом [46], посилення поведінки, орієнтованої на дослідження нових об'єктів [47],

підвищення агресивної поведінки і тривожності [48, 49]. В контексті участі LS у контролі агресії, ураження цієї зони проявляються, як особливий поведінковий фенотип, відомий як «септальна лють». Це висвітлює інгібуючий вплив проєкцій LS на вентромедіальний гіпоталамус і мигдалину [48, 50]. Ураження LS також призводило до підсилення епізодів завмирання (захисної поведінки) при виробленні умовного рефлексу уникання контекстних аверсивних стимулів [51], збільшення больової чутливості [52], гіперактивності у тестах на відкритому полі, збільшенні дослідницької поведінки (rearing) щодо підкріплюючих стимулів і при оперантному навчанні з підкріпленням [53, 54].

LS бере участь у реалізації цілеспрямованої поведінки – активність нейронів LS корелювала зі швидкістю і прискоренням руху тварин, які виконували завдання для отримання винагороди [55]. Автори дослідження вважають, що після процесингу парою LS-гіпокамп інформація передається в «ядро» системи винагороди - VTA, тобто LS не тільки опрацьовує стимули, які пов'язані з отриманням винагороди, створює асоціації, а і бере безпосередню участь у формуванні моторного компонента мотивованої поведінки.

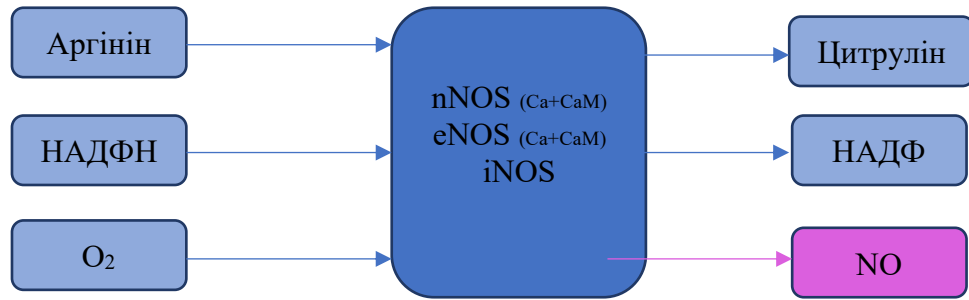
Як видно з вищенаведених фактів, область LS задіяна у інтеграції досить широкого спектру різних типів поведінки. Щодо його ролі у формуванні і розвитку аддикцій, то участь LS описана для різних речовин і різних стадій циклу залежності. В дослідженні [88] показано, що LS безпосередньо опосередковує підкріплюючу дію алкоголю в структурі системи винагороди, і блокада електричної активності нейронів LS призводила до падіння виділення дофаміну в *NAcc* у відповідь на введення етанолу. Також у самому LS реєстрували підвищення рівня дофаміну на введення морфіну, як реакцію на зниження інгібуючого ГАМК-опосередкованого сигналіngu від VTA [93]. Описана участь і роль LS у формуванні CPP для тваринних моделей кокаїнової та морфінової залежностей в структурі мережі гіпокамп-LS-VTA [90, 91, 94, 95]. Було підтверджено участь нейромереж з залученням LS і гіпокампа для моделі кокаїнової залежності для щурів [90, 91]. Як було сказано вище, LS бере участь

в створенні асоціацій стимул-винагорода-контекст, що є ключовим для реактивації поведінкових стереотипів, які формуються при розвитку залежності, які запускають рецидиви, індуковані презентацією/зустріччю з відповідним контекстом.

Набагато менше даних щодо гострої відповіді LS на речовини, які викликають залежність і активацію системи винагороди. Експерименти Roggino з колегами показали підвищену метаболічну активність мозку щурів при ГАІ. Вони описують корельовану функціональну активацію зон лімбічної системи – ймовірної нейромережі, яка активується у відповідь на алкоголь, і в яку входить LS [89]. Інше дослідження виявило активацію генів раннього реагування в LS в часовому проміжку 30 хв у відповідь на гостре введення морфіну [92]. В цій же роботі в тому ж часовому проміжку показана активація інших основних зон лімбічної системи, чия участь в розвитку аддикцій не підлягає сумніву – *VTA*, *NAcc*, мигдалини, *mPFC* та ін. Враховуючи ці факти, спостерігається нестача даних щодо залучення LS, особливо в розрізі гострого реагування алкогольну інтоксикацію.

#### 1.5. Система оксиду азоту: загальні відомості, зміни під час розвитку аддикцій і фармакологічного блокування

Оксид азоту (NO) – газоподібна сполука, яка регулює низку важливих фізіологічних функцій і патологічних станів в багатьох системах організму – серцево-судинній та імунній, включаючи центральну нервову систему, де NO відіграє роль нейромедіатора і нейромодулятора [62]. NO синтезується з амінокислоти L-аргініну сімейством ферментів NO-синтаз (NOS), в яких виділено три ізоформи – нейрональна (nNOS), ендотеліальна (eNOS) і індукцибельна (iNOS). NOS каталізує реакцію перетворення L-аргініну в L-цитрулін з вивільненням NO (рис. 1.3).



**Рис. 1.3.** Механізм синтезу оксиду азоту; nNOS – нейрональна NO-синтаза, iNOS – індукцйбельна NO-синтаза, eNOS ендотеліальна NO-синтаза, Ca – кальцій, CaM – кальмодулін, НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат, НАДФН - дигідронікотинамідаденіндинуклеотидфосфат.

NO бере участь у багатьох клітинних каскадах, має як аутокринну, так і паракринну дію. Найбільш відомою дією NO є участь у регуляції тону́су судин, за відкриття якої Роберту Фергчотту, Луїсу Ігнарро та Феріду Мурадо було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини у 1998 році. Пізніше було описано значно ширший діапазон процесів, в яких NO бере участь [62, 63]. В глобальному фізіологічному контексті до NO-залежних процесів відносяться генерація циркадних і дихальних ритмів, пейсмейкерна активність ШКТ, виділення гормонів центральними залозами – гіпоталамусом і гіпофізом, модулювання стресової вісі, участь у нейропластичності – регулюванні механізмів довготривалих потенціації і депресії, процесах навчання і формування пам'яті, реактивності імунної системи, канцерогенезу та ін. [64]. Щодо нервової системи і участі NO у передачі сигналів, то цей газ хоч і не є класичним нейромедіатором, але має як пряму дію на нейропередачу, так і бере участь у регуляції виділення інших нейромедіаторів.

Експресія nNOS була ідентифікована в нейронах, астроцитах і мозкових судинах. eNOS в ЦНС синтезується в ендотеліоцитах і культурах астроцитів [62]. Рівень експресії iNOS в ЦНС досить низький, хоча може збільшуватися при травмах, ішемії, запальних процесах, що супроводжуються активацією



астроцитів і мікроглії. Згідно ряду досліджень з розподілу nNOS в ЦНС гризунів і приматів, ця ізоформа локалізується як в багатьох відділах кори, так і підкіркових структур, включаючи систему винагороди [65, 66].

У фізіологічних умовах NO чинить нейропротективну дію через молекулярні шляхи Akt і CREB, виявлена нейропротективна роль NO при ексайтотоксичності, яку спричиняє тривала активація NMDA-рецепторів. Однак означений ефект залежав від ізоформ фермента [62, 67]. При патологічному підвищенні синтезу оксиду азоту проявляється його токсична дія, яка по аналогії з оксидативним стресом була названа нітрозативним стресом. Нітрозативний стрес спричиняється як самим надлишком NO, так і його активними токсичними похідними – пероксінітридом і оксидом азоту (III). NO, як було описано вище, має модулюючу дію на медіаторні системи багатьох зон мозку, включаючи ті, які беруть участь у формуванні залежності. В нормальних концентраціях він пригнічував виділення ГАМК, тоді як високі дози, навпаки, посилювали ГАМК-трансмісію в гіпокампі у щурів [69, 70], стимулював вивільнення ацетилхоліну в вентральному стріатумі і *NAcc* [71], в медіальній преоптичній ділянці NO збільшував вивільнення дофаміну і серотоніну [72].

Нітнергічна система змінює свою активність у відповідь на вживання багатьох психотропних речовин, які здатні викликати залежність і є активним «гравцем» на всіх стадіях циклу Мура. Щодо системної дії етанолу, то в досить широкому спектрі доз алкоголь зменшував сумарну продукцію NO (методика заміру враховувала весь синтезуємий газ) [68]. Однак, наступні дослідження виявили прямо протилежні результати при замірі рівня NO безпосередньо в тканинах мозку, де показано, що ГАІ супроводжувалась збільшенням концентрації NO за дозозалежним типом [63].

Була висунута гіпотеза, що NO може послаблювати гіпнотичні ефекти етанолу (стосується дуже високих або так званих гіпнотичних доз 3 г/кг і вище для гризунів) [73]. Частково ця гіпотеза була підтверджена, але з урахуванням,

що ефект блокади посилював дію етанолу не *per se*, а швидше був пов'язаний з фармакокінетичним ефектом високих доз блокатора (7-NI у дозах 40-120 мг/кг), який суттєво уповільнював метаболізм алкоголю [74]. Пізніше в дослідженні [75] авторами було показано, що блокада NOS (7-NI в дозі 25 мг/кг) за 30 хвилин до введення етанолу (у ефективній дозі 1.5 г/кг) зменшувала алкоголь-індуковану локомоторну сенситизацію. Це визначило діапазон доз блокатора nNOS - 7-NI, який на разі використовується авторами багатьох досліджень аддикцій, з верхньою межею < 40 мг/кг для селективної блокади фермента, щоб усунути супутній вплив на фармакокінетику етанолу. Дози менше 10 мг/кг не виявляли достатнього ефекту, а високі (вище 40 мг/кг) окрім вже вищезгаданого впливу на фармакокінетику етанолу, призводили до втрати специфічності блокади і впливали на вживання води і їжі тваринами, змінювали функціонування вегетативних фізіологічних систем, що призводило до зміни температури тіла, частоти серцевих скорочень, моторної активності [77].

Блокада NOS виявилась перспективною фармакологічною ціллю і показала свою ефективність при модифікації перебігу багатьох типів залежностей, так і при блокаді хронічних ефектів алкоголю для тваринних моделей. Вперше дослідження впливу блокади NOS на стадію відміни було опубліковано Adams з колегами [76], які показали, що блокування NOS зменшувало гострі симптоми, характерні для абстинентного синдрому. Блокада NOS статистично значущо зменшувала кількість спожитого алкоголю у щурів [77, 81], знижувала тривожність, яка є одним із фактором запуску повторних епізодів вживання (блокада в дорзальному ядрі шва, поведінковий тест - *elevated plus maze*) [78]. Pokk з колегами виявили, що блокада NOS також призводила до пригнічення поведінкових проявів при моделюванні гострої інтоксикації у мишей, але не впливала на поведінку у тварин на стадії відміни (тут варто зауважити, що інгібітор вводився за 1 і 7.5 годин до проведення тесту, хоча на разі типовим вікном для блокади є 30 хв до введення етанолу) і доза етанолу складала 3 г/кг, що є гіпнотичною дозою) [79]. Внутрішньошлуночкове

введення інгібітору nNOS – олігонуклеотиду зменшувало вживання алкоголю у щурів, як і реакцію переваги місця (CPP) [82]. Вплив блокади NOS на CPP задокументовано не тільки для алкоголю, але й для багатьох інших психотропних та наркотичних речовин – нікотину, морфіну, кокаїну, MDMA [83, 84, 85, 86]. Блокада NO-синтазної системи окрім зменшення індукованої ГАІ локомоторної сенситизації, зменшувала і підкріплюючу дію алкоголю [75]. Схожий ефект спостерігався для дофамін-опосередкованого підкріплення на введення кокаїну [87].

NO-синтазна система безсумнівно задіяна у реакції ЦНС на алкоголь і модулює нейроадаптацію у відповідних зонах мозку. Ефекти ж можуть різнитися від конкретної зони мозку, стадії і типу фермента. В цьому контексті, враховуючи місце і роль LS в розвитку залежності та модулюючу роль NO-синтазної системи, необхідні додаткові дослідження для виявлення реакції нітратної системи конкретно для зони LS на гострі і хронічні ефекти етанолу.

## 1.7. Методи нейроелектрофізіології

Одним з основних класів експериментальних методів дослідження мозку – є методи електрофізіології або реєстрації параметрів електромагнітного поля (вольтажу, струмів, напруженості магнітного поля), яке генерується при русі електричних зарядів через іонні канали мембран. Ці електромагнітні процеси супроводжують будь яку активність в мозку. Реєстрація сигналів в залежності від типу запису може відбуватися в різних просторових масштабах – від рівня окремих іонних каналів, потенціалів індивідуальних клітин аж до сумарного сигналу від досить великих ділянок мозку.

Одна з найбільш використовуваних в нейрофізіології технік є мікроелектродна техніка позаклітинного запису потенціалів дії окремої клітини (SUA – single unit activity) або ж декількох клітин (MUA – multiunit activity). Сигнал реєструється електродом, введеним в мозок, відповідно, від однієї

клітини для SUA та від декількох для MUA. При записі у широкому діапазоні частот з нижньою границею від 0.05-2 Гц разом з потенціалами дії реєструється позаклітинний локальний польовий потенціал (LFP), який є агрегатом більш повільних подій, ніж потенціали дії. Він включає в себе синаптичні потенціали, коливання мембранних потенціалів, ефаптичні феномени, фази гіперполяризації потенціалів дії, etc. LFP – є внутрішньоцеребральним аналогом електроенцефалограми (ЕЕГ), електрокортикограми (ЕКоГ) та магнетоенцефалограми (МЕГ) [96, 97].

LFP відображає координовані електричні події або осциляції – узгоджену активність груп нейронів і окремих зон у різних масштабах, яка реєструється при інтрацеребральних записах. Зона низьких частот вважається відображенням координованої активності між різними зонами мозку, зі зростанням частоти зменшується масштаб, який вносить вклад в сигнал LFP – до окремих нейронних ансамблів і серій потенціалів дії [96, 98, 99]. Якщо для ЕЕГ є проблематичним дослідження спектру в частотних зонах вище 70 Гц, а часто і 60 Гц за рахунок ослаблення сигналу та його екранування тканинами черепу і скальпу, то ЕКоГ та LFP, отримані при записах з поверхні мозку та інтрацеребральних записах дозволяють аналізувати електричні сигнали в зоні ультрашвидких осциляцій від 100 до 500 Гц і вище. Хоча LFP відноситься до сигналів з великою часовою роздільною здатністю, було виявлено його кореляцію з BOLD-сигналом (blood-oxygen-level-dependent, залежним від рівня кисню в крові) fMRI (функціональна магнітна томографія), яка є основним методом дослідження складних когнітивних процесів *in vivo* для встановлення конкретних нейромереж [100, 101].

Аналіз LFP/ЕЕГ/ЕКоГ традиційно проводять для різних частотних смуг, які історично означені як дельта (0.5-4 Гц), тета (4-8 Гц), альфа (8-12 Гц), бета (12-30 Гц), гама (30-90 Гц) та епсилон або ультрашвидкі ритми (90 Гц і вище). Границі частотних смуг можуть варіювати для різних зон, типів реєстрації сигналу та біологічних видів досліджуваних суб'єктів, зберігаючи загальний

поділ на вищеописані смуги. Варіації в потужності різних зон – є нервовими корелятами, які відображають процесинг інформації відповідними зонами, когнітивних функцій, маркерами змін при захворюваннях нервової системи та різних психологічних станів [111, 112, 113, 114, 115].

З розвитком обчислювальної техніки та методів аналізу, поряд з класичним дослідженням спонтанної ЕЕГ і потенціалів зв'язаних з подією (ERP) почали використовувати аналіз осциляторної активності в частотно-часовому домені, що дозволило спостерігати не тільки, які ритми присутні в мозковій активності, але і встановити часові проміжки, коли вони з'являлися. Класичним прикладом такого аналізу є аналіз спектрограм і осциляцій зв'язаних з подією (ERO).

Також разом з ритмічною активністю сигнали LFP/ЕЕГ/ЕКоГ містять, так звану, масштаб-незалежну фрактальну частину або нейронний шум (scale-free activity, neural noise, arrhythmic activity) [102, 103]. Дані останніх років виявляють зміну фрактальної частини спектрів LFP/ЕЕГ/ЕКоГ при багатьох патологіях мозку [104, 105, 106, 107, 108, 109, 110].

## 1.8. Електрофізіологічні маркери алкогольної залежності та інших залежностей

Алкоголь змінює багато аспектів функціонування мозку, як на ранніх стадіях вживання, так при розвитку залежності. Електрофізіологічні методи дозволяють оцінювати і відстежувати ці зміни для встановлення механізмів, які за ними стоять. Методики ЕЕГ у варіаціях запису спонтанної активності, ERP, варіації попередньої техніки для частотно-часового аналізу – ERO, ЕКоГ, а також LFP та нейронного шуму широко використовуються для цієї мети. Описані методики мають високу часову роздільну здатність, а завдяки їх неінвазивності (у випадку ЕЕГ з її варіаціями), комбінування з різноманітними

когнітивними завданнями та одночасною фіксацією поведінки – дають можливість вивчати фізіологічне підґрунтя та будувати моделі відповідних нейронних мереж [116].

На сьогодні ми маємо величезну базу накопичених знань, щодо змін, асоційованих з вживанням алкоголю для спонтанних EEG (частотний домен) та ERP. Набагато менше даних зібрано для ERO, ECoG та LFP внаслідок з однієї сторони інвазивності методик (ECoG та LFP) та відносно нового типу аналізу в частотно-часовому домені (ERO).

Різні джерела рапортують, як про збільшення, так і зниження потужності для дельта, тета та альфа частотних смуг та збільшення потужності у бета частотній смузі для EEG у спокої; зниження дельта, тета і гамма потужності для ERO для хронічних хворих AUDs [117]. Для гострого вживання алкоголю спостерігалось збільшення потужності переважно в альфа і тета частотних зонах для EEG у спокої [120, 121, 122, 123]. Цікаво, що електрофізіологічний відгук і документовані ефекти відрізнялись для індивідуумів з позитивною і з негативною сімейною історією AUDs [118]. Також спостерігались етнічні варіації у зміні потужності EEG при ГАІ [119].

Якщо у EEG з її варіаціями досить довга історія досліджень з величезною базою накопичених даних і висновків, то вивчення змін LFP при розвитку залежностей стало актуальним відносно недавно. Цей інтерес пов'язаний з активним розвитком технологій DBS (глибока стимуляція мозку) і TMS. Якщо раніше дослідження LFP представляло лише фундаментальний інтерес для виявлення нейрофізіологічних механізмів функціонування мозку на тваринних моделях, то на разі з розвитком технологій з'явилася можливість впливу і використання LFP в клінічній практиці для діагностики, контролю та лікування різноманітних хвороб, таких як хвороба Паркінсона, депресивні розлади, хвороба Альцгеймера, синдром Туретта, латеральний аміотрофічний склероз, синдром замкненої людини, алкогольна та інші залежності. Дані технології

використовуються і при розробці інтерфейсів типу мозок-комп'ютер і використовуються для нейрореабілітації [125, 126, 127, 128, 129, 130].

Виявлено порушення осциляторної активності прелімбічної області і асоціація (куплінг) тета-гамма частот LFP при героїновій залежності у моделях на щурах [134]. Для психотропа кетаміна спостерігалась ініціація ультрашвидких осциляцій в зоні *NAcc* [134]. Виявлена значна супресія потужності тета-осциляторної активності для базолатеральної мигдалини для амфетамінової моделі CPP [135]. Основна маса досліджень LFP стосується переважно області *NAcc*, *VTA* і *BNST* для вже сформованих залежностей і їх пізніх стадій.

Методики впливу на електричну активність мозку активно переходять з лабораторій у практичну медицину і з'являється все більше можливостей для корекції патологічних нейромереж методиками стимуляції. Наприклад, в роботі [131] описано використання білатеральної DBS області *NAcc* для лікування алкогольної залежності у чотирьох пацієнтів. Всі пацієнти показали значне покращення в перебігу і контролі залежності, для двох зафіксовано чотири роки абстиненції без рецидивів. DBS показала свою ефективність і для інших речовин, що викликають залежності і на разі вже почалися клінічні дослідження по стимуляції центральних ланок системи винагороди, щоб перервати змінене функціонування нейронних контурів. Дані пілотного дослідження (номер дослідження NCT01274988) одночасної стимуляції *NAcc* і переднього коліна внутрішньої капсули для попередження рецидивів і зменшення потягу/пошуку при героїновій залежності виявили безпечність методики з незначними побічними ефектами при значному полегшенні перебігу залежності і закріплення абстиненції у частини пацієнтів [132]. Після позитивних результатів пілотного дослідження дана методика тестується на наступних етапах клінічних досліджень [133].

Поряд з цим, існує велика прогалина відносно характеристик LFP для багатьох інших зон лімбічної системи та структур, які активуються, як на

ранніх, так и пізніх стадіях залежності, серед яких є і LS. Дослідницькі виклики щодо повного розуміння механізму AUDs потребують уточнення реакції LS на ГАІ. Дослідження ускладняється тим, що це глибока структура мозку, яка залучена у доволі широкий спектр функцій і процесів.

Інший аспект, притаманний багатьом біологічним системам – це досить високий рівень шуму, який супроводжує всі без виключення біологічні процеси, починаючи від транскрипції генів до серцевої діяльності. Теорія Shannon про те, що шум однозначно погіршує передачу інформації піддається сумніву. На разі, стало зрозуміло, що певний рівень шуму не лише є особливістю емерджентних систем, але і необхідним компромісом між затратами енергії і ефективністю роботи. При цьому він містить корисну інформацію про специфічні процеси, які його генерують. Тому якщо при розвитку патології змінюється фізіологія і варіабельність відповідних процесів, то змінюється і динаміка шуму. Цей ефект вже успішно використовується як біомаркер для певних патологій, наприклад варіабельність серцевого ритму, як предиктор інфаркту міокарду і ступеню відновлення після хвороби [206], предиктор результатів серцевої хірургії [208], клінічної депресії [207] та інших патологій [205, 209]. І якщо варіабельність серцевого ритму вже давно відома і вивчається, то дослідження аритмічної активності мозку найбільше актуалізувалося в останні 5 років. Вже встановлена зміна рівня нейронного шуму при старінні [210], шизофренії [107], аутизмі [107], синдромі Туретта [212], дислексії [109]. Очікувано, що і вживання психотропних речовин змінить поведінку нейронного шуму, що було зафіксовано для алкоголю і тетрагідроканабінолу [110, 214]. Серйозним обмеженням для випадку нейронного шуму є складність його інтерпретації при великій кількості і гетерогенності “генераторів”, які вносять вклад у сигнал. Розуміння, як саме аритмічна активність змінюється при різних патологіях і станах необхідно для загального розуміння того як функціонує мозок, розкриття механізмів багатьох хвороб і для задачі пошуку їх електрофізіологічних маркерів і корелятив.



Опираючись на дані про належність LS до лімбічної системи винагороди, його зв'язки з іншими зонами, на очевидні поведінкові зміни в експериментах з тваринними моделями AUDs, які спостерігалися при втручанні в різні нейротрансмітерні системи LS, включаючи нітредгічну, можна висунути гіпотезу, що вже на початкових стадіях етанол буде впливати на електричну активність LS і, ймовірно, змінить активність NO-синтазної системи.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено в науково-дослідній лабораторії експериментальної нейрофізіології, кафедри нормальної фізіології, свідоцтво про технічну компетентність №117/21. Усі експерименти були проведені з дотриманням основних положень Закону України № 3447 - IV від 21.02.06 р. "Про захист тварин від жорстокого поводження" (2006), "Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин", затверджених наказом МОЗ України № 755 від 12.08.1997 р., "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986) та Директиви Ради Європи 2010/63 EU щодо експериментів на тваринах. Були дотримані усі положення вищезначених документів, включаючи використання якомога меншої кількості тварин для отримання достовірних результатів. Усі маніпуляції виконувалися під місцевою та загальною анестезією і були прикладені всі зусилля для зменшення страждань тварин.

#### 2.1. Експериментальні тварини

Дана робота виконана на щурах лінії Wistar експериментально-біологічної клініки інституту фізіології ім. О.О. Богомольця масою 170-250 г, віком 3-3,5 місяці. До початку експерименту тварини проходили адаптаційний етап в віварії кафедри тривалістю 5 днів. На протязі всіх стадій експериментального дослідження тварин утримували в умовах природньої освітленості зі сталими показниками температури, вологості та з вільним доступом до води і їжі. В якості

харчового раціону використовувався гранульований корм для гризунів. Тварини розміщувалися по 2 особина в клітці.

## 2.2. Схема, дизайн експерименту і склад експериментальних груп

В даній роботі моделювалася перша стадія розвитку алкогольної залежності – ГАІ. Досліджувалась електрична активність мозку у зоні LS: LFP і нейронний шум для фонові спонтанної активності та активності на фоні ГАІ, а також гістохімічна реактивність нітрегичної системи для трьох експериментальних груп тварин – контрольної групи, групи моделювання ГАІ та групи моделювання ГАІ з блокадою NO-синтазної системи мозку.

Моделювання ГАІ було проведено інтраперитонеальними ін'єкціями етилового спирту. Доза етилового спирту 2 г/кг у вигляді 15%-ного розчину на фізіологічному розчині класифікувалася, як ефективна доза, що дає виражену анксиолітичну реакцію ЦНС з порушенням моторної координації без гіпнотичних ефектів [136, 137]. Іншим аргументом стала теорія факторів ризику розвитку алкогольної залежності, де одним із основних факторів визначається епізодичне вживання високих доз алкоголю (binge drinking) [202].

Для блокади NO-системи був використаний селективний інгібітор нейрональної NO-синтази 7-нітроіндазол (7-NI) в дозі 20 мг/кг інтраперитонеально, який вводився за 30 хв до введення етанолу [231, 232].

Анестезія проводилася ін'єкціями кетаміну (90 мг/кг) і ксилазіну 12 мг/кг інтраперитонеально для експериментів з записом електричної активності мозку і розчином тіопенталу натрію у дозі 75 мг/кг для фіксації гістохімічної активності.

Експериментальні щури (n = 8) були використані для дослідження електричної активності мозку в області LS:

- для реєстрації LFP (n = 8);

- дослідження нейронного шуму ( $n = 8$ );

Дизайн дослідження реєстрації електричної активності LS проілюстрований на рис.2.1:



**Рис. 2.1.** Блок-схема експерименту дослідження електричної активності LS (EtOH – 15%-вий розчин етанолу).

Експериментальні тварини для дослідження нітратергічної системи LS були розділені на три групи:

- група 1 – контрольна або інтактна ( $n = 4$ ), тварини отримували ін'єкції фізіологічного розчину, об'ємом відповідно до нормалізованого об'єму ін'єкцій – 10 мл/кг;
- група 2 - група моделювання гострої алкогольної інтоксикації ( $n = 4$ ), яка отримувала ін'єкцію 15 % розчину етилового спирту інтраперитонеально у дозі 2 г/кг;
- група 3 - група моделювання гострої алкогольної інтоксикації на фоні блокади NO-синтазної системи мозку ( $n = 4$ ). Тварини отримували інтраперитонеальні ін'єкції селективного інгібітора NOS – 7-NI в дозі 20 мг/кг і через 30 хвилин 15% розчин етилового спирту у дозі 2 г/кг.

Дизайн дослідження проілюстрований на рис.2.2.

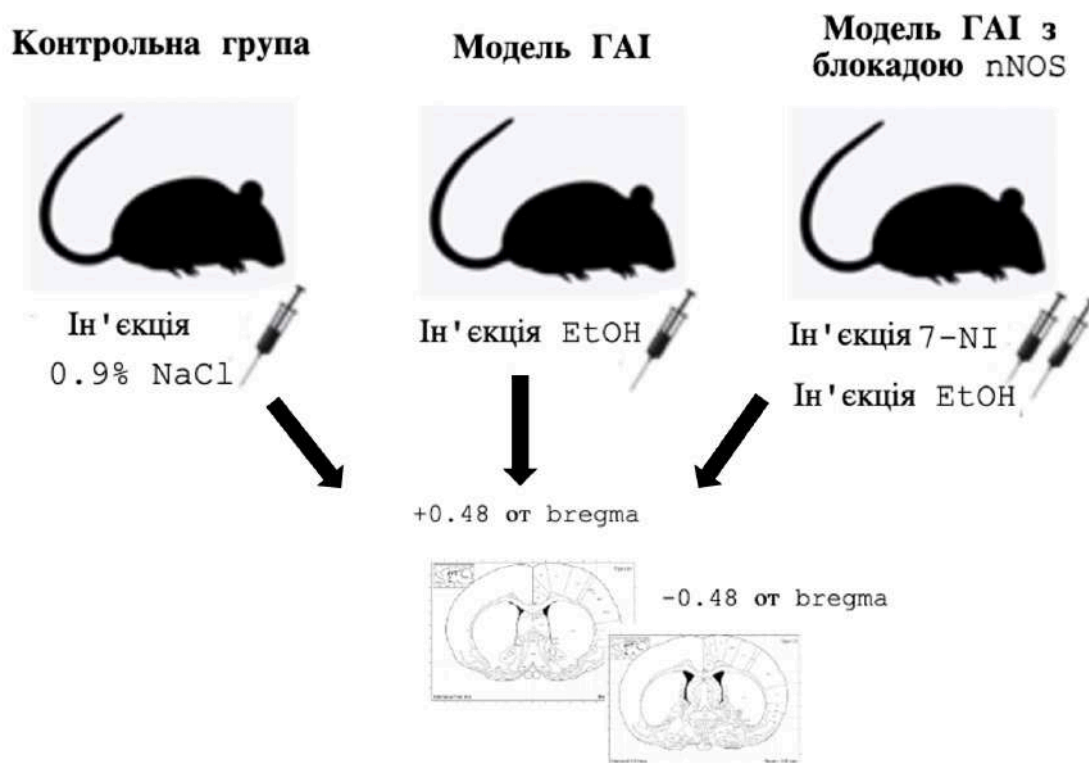


Рис. 2.2 Блок-схема експерименту дослідження гістохімічної активності LS ( 0.9% NaCl – фізіологічний розчин, EtOH – 15 %-вий розчин етанолу, 7-NI – 7-нітроіндазол).

### 2.3 Дослідження електричної активності LS: імплантація електродів, реєстрація сигналу

Експериментальні тварини були попередньо наркотизовані і зафіксовані в стереотаксисі на термоподушці, яка дозволяла утримувати сталою температуру тіла під час експерименту. Шкіра в операційній зоні попередньо знеболювалася місцевим анестетиком, видалявся волосяний покрив в операційному полі. Проводився сагітальний розріз і оголювалася поверхня черепа. Після чого зубною дрілью висвердлювався отвір відповідно з заданими координатами AP + 0.53 мм, ML  $\pm$  0.8 мм, DL -4.7 мм для імплантації електрода в область LS (рис. 2.3).

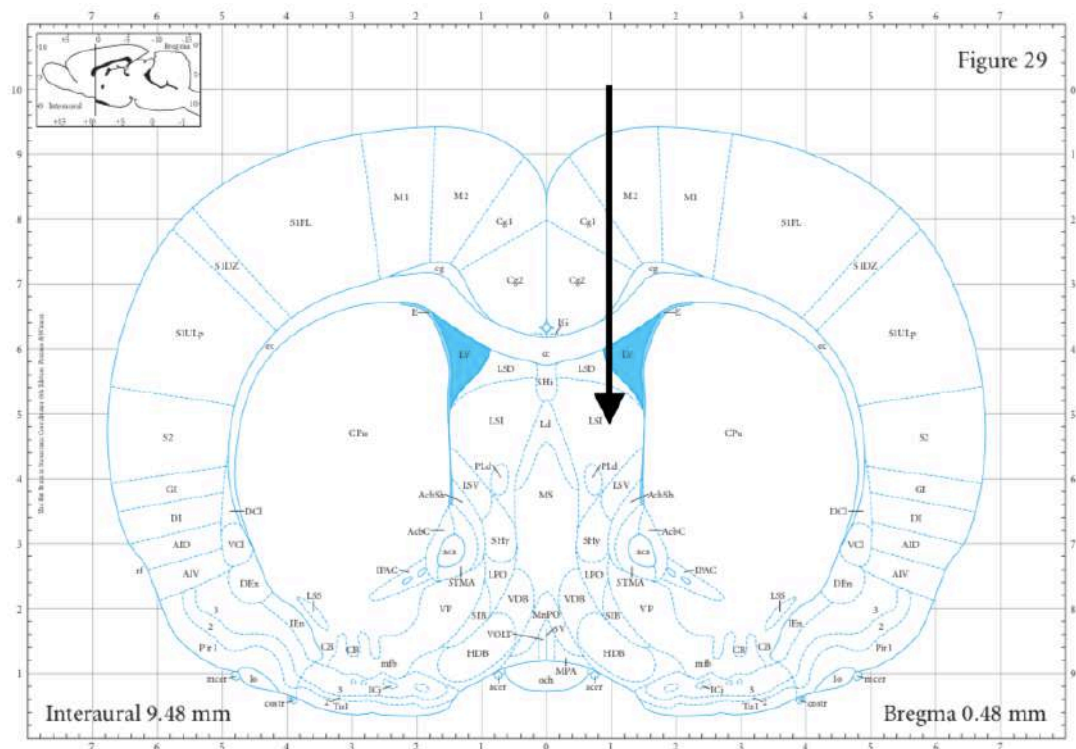


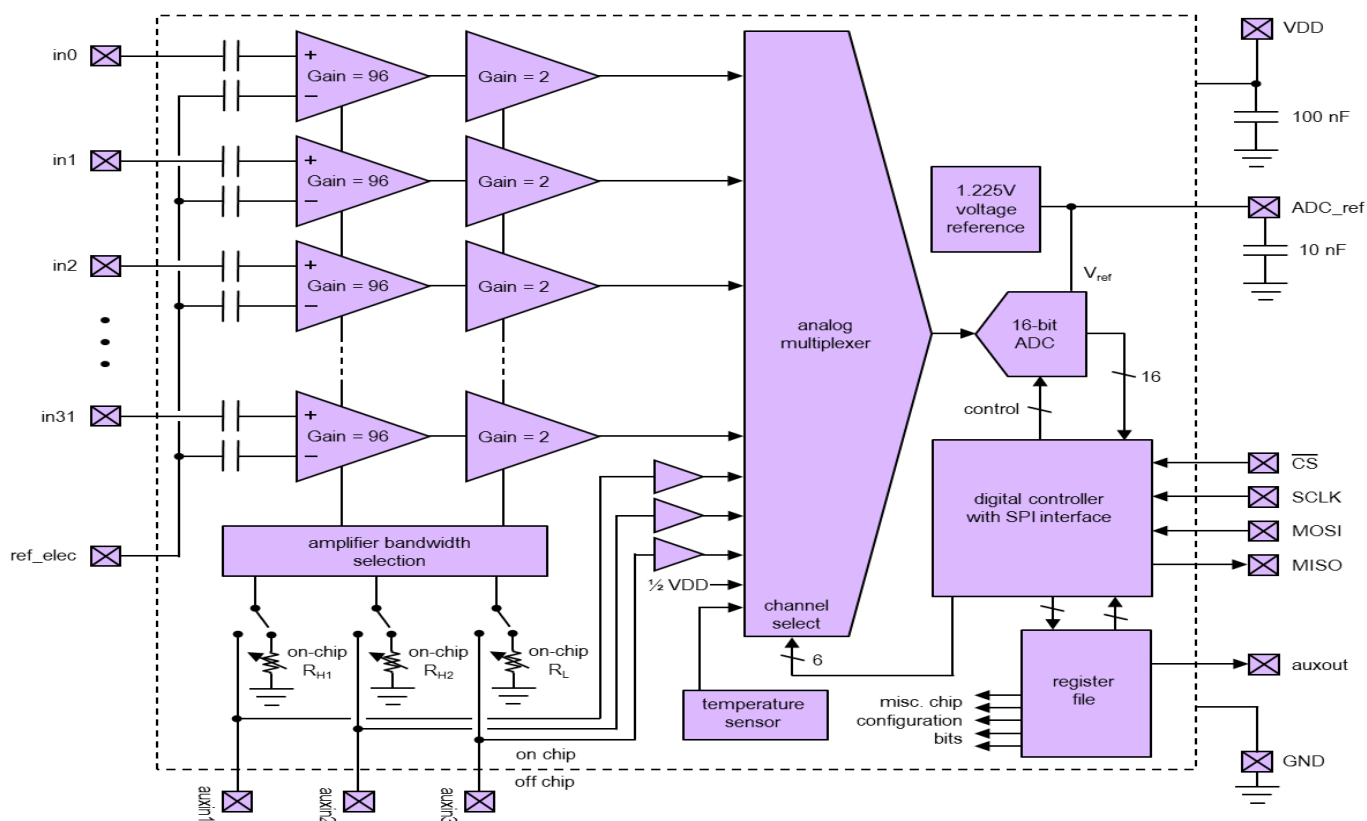
Рис. 2.3 Точка входу електроду згідно стереотаксичних координат по атласу “Rat Brain In Stereotaxic Coordinates”, (Paxinos G., 2007) [138].

Вхід електроду в потрібну зону підтверджувався електролітичним руйнуванням відповідних ділянок LS постійним струмом: сила струму 0.5 мА, тривалість 12 с. Електрод вводився за допомогою мікроманіпулятора з кроком 5 мкм.

Для реєстрації сигналу LFP використовувався восьмиканальний вольфрамовий електрод – власна розробка лабораторії. Діаметр контактної площадки – 12 мкм; 8 дотів електрода були організовані в один стилетоподібний пучок [139]. Сигнал для аналізу LFP та нейронного шуму записувався з електрода за допомогою системи [140], розробленої в рамках цього дисертаційного дослідження.

Для реєстрації LFP/MUA в рамках дисертаційного дослідження був розроблений робочий прототип 32-канальної системи для позаклітинних записів з мозку гризунів і реєстрації сигналу у тварин, що вільно рухаються. DAQ-

модуль (модуль реєстрації даних) живиться від компактної батареї і може кріпитися до спини щурів для здійснення хронічних записів (рис. 2.4, табл. 2.1).

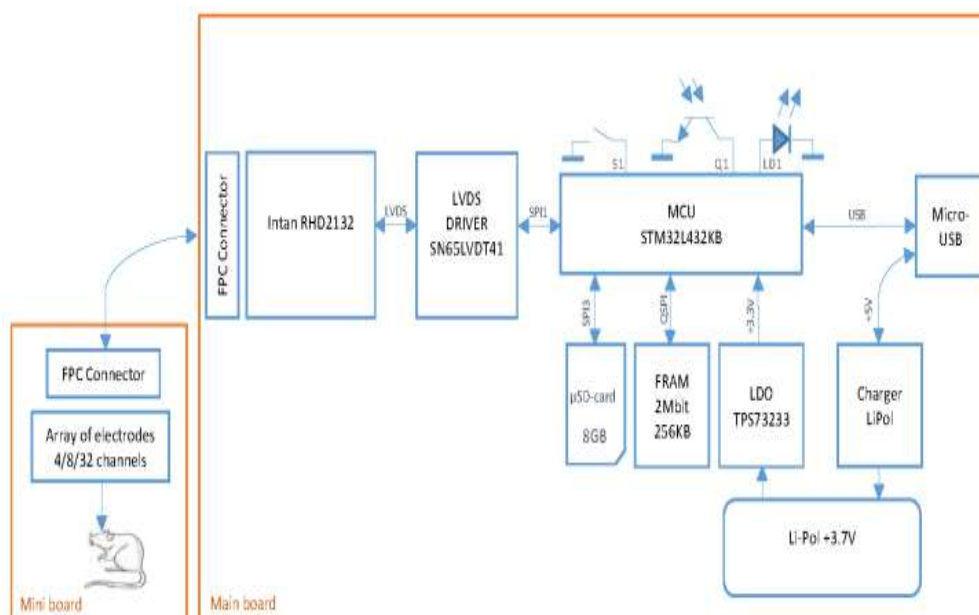


**Рис. 2.4.** Схема керуючого ядра DAQ-модуля – мікрочіпа Intan RHD2132 [141].

Сигнал з електроду передається безпосередньо на DAQ-модуль з керуючим ядром на мікрочіпі Intan RHD2132 через блок каскадних підсилювачів і інструментальних фільтрів зі смугою пропускання 0.1 – 5000 Гц. Сигнал оцифровується 16-бітним аналогово-цифровим перетворювачем (АЦП). АЦП оперує зі швидкістю 1.05 МГц/с і здатний підтримувати частоту дискретизації 30 кГц/канал (рис. 2.5).

Параметри реєструючої системи DAQ-модуля

Параметри	Значення
Розміри	17 * 41 mm
Вага без батареї	2.95 g
Вага батареї	5.05 g
Кількість каналів (програмується)	1 - 32
Підсилення	192 V/V
Діапазон фільтрів $f_{LC}/f_{UC}$ (програмується)	0.5-500Hz/100-20000Hz
Рівень вхідного шуму	2.4 uVrms



**Рис 2.5.** Блок-схема DAQ-модуля (Main board) з підключенням до масиву електродів (Mini board): сигнал з імплантованих електродів через FPC-кабель, блок інструментальних фільтрів і підсилювачів оцифровується АЦП на Intan RHD2132. Мікроконтролер MCU STM32L432KB оперує потоком даних, що



надходить з чіпу Intan RHD2132. Мікроконтролер використовує додатковий блок пам'яті FRAM і записує дані на uSD-карту. Система живиться від Li-полімерної батареї (Li-Pol). LVDS Driver – драйвер низьковольтної диференціальної передачі, S1 – ключ, LD1 – сигнальний світлодіод, Q1 – фототранзистор, LDO – регулятор напруги з мінімальним падінням на стабілізаторі, Charger Li-Pol – Li-полімерна батарея, FPC-connector – перехідник FPC між DAQ-модулем і масивом електродів, SPI – серійний периферійний інтерфейс.

Мікроконтролер STM32L12KB оперує чіпом Intan через SPI/LVDS інтерфейс. Передача даних була організована через додаткову FRAM пам'ять, щоб компенсувати недостатній об'єм пам'яті мікроконтролера. Отримані з електродів і цифровані дані записуються у вигляді бінарного файлу на uSD - карту.

Робочий прототип розробленого DAQ-модуля реєструючої системи представлений на рис.2.6.

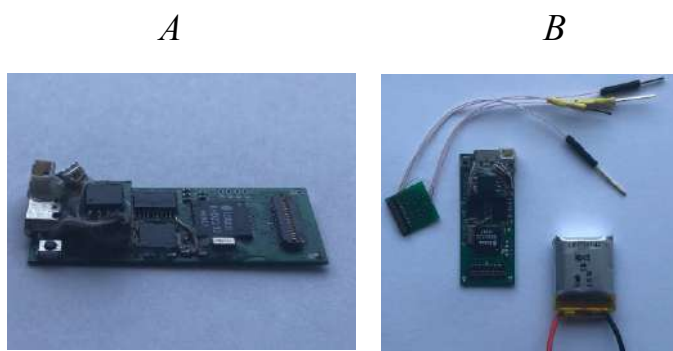
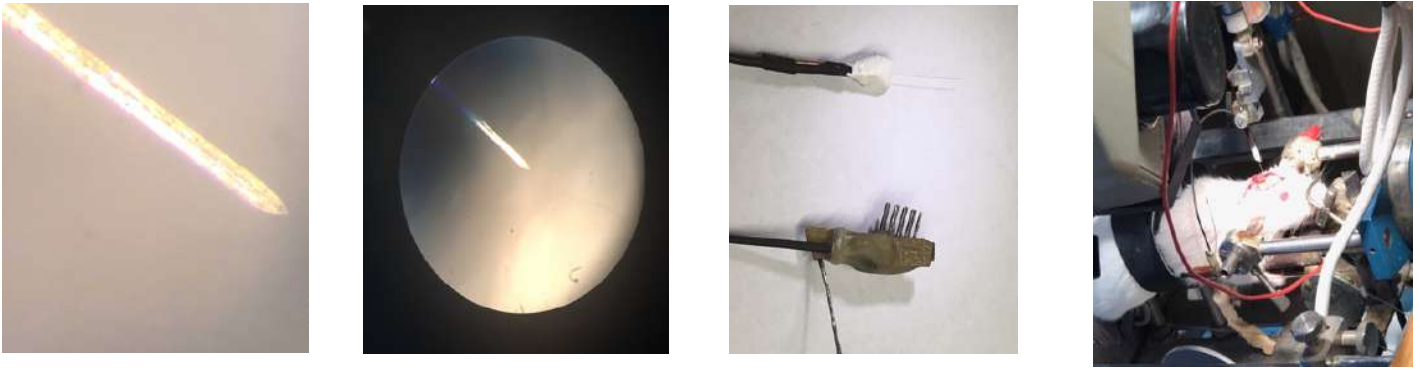


Рис. 2.6 Фото DAQ-модуля реєструючої системи (A) і фото DAQ-модуля з акумулятором і платою для тестування (B).

На рис. 2.7 представлені мікрофотографії масиву мікроелектродів та фото реєстрації електричної активності мозку у тварини в наркозі.



*A*

*B*

*C*

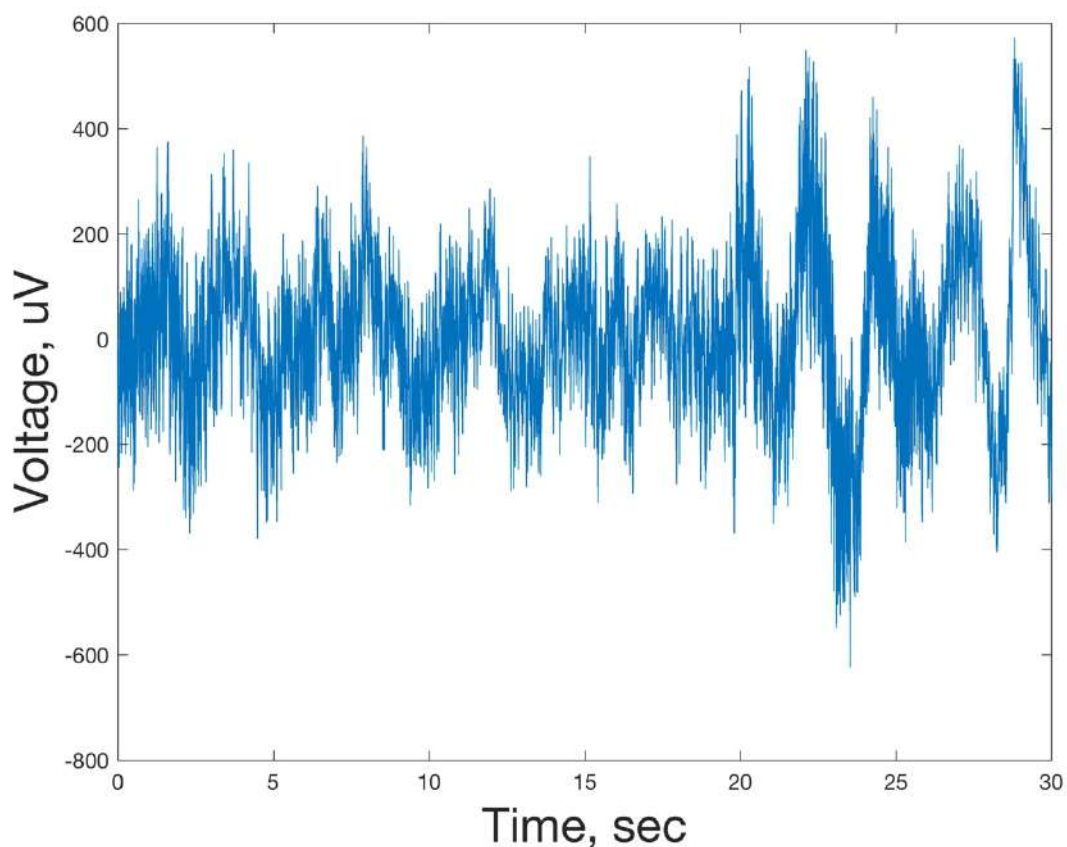
*D*

Рис. 2.7 Мікрофотографії масиву реєструючих електродів (*A-B*), фотографія електроду з перехідником (*C*), фотографія реєстрації електричної активності мозку у щура в наркозі (*D*).

Перед кожним експериментом контактні площадки мікроелектродів очищувалися і заточувалися для зняття окислів, а також проводилися калібровочні записи тестового синусоїдального сигналу відомої частоти і амплітуди.

#### 2.4 Запис, цифрова обробка, аналіз і статистична обробка LFP сигналу

Сигнал з області латерального септума записувався з імплантованого електрода DAQ-модулем. Сигнал записувався через блок каскадних підсилювачів і вбудованих інструментальних фільтрів зі смугою пропускання 0.1 – 5000 Гц. Сигнал оцифровувався з частотою дискретизації  $20880 \text{ c}^{-1}$  на канал. Фрагмент необробленого LFP сигналу, отриманого в серії експериментів, представлений на рис. 2.8.



**Рис. 2.8** Репрезентативний фрагмент сигналу, записаний з LS наркотизованого щура. По осі абсцис – час (Time), с; по осі ординат – напруга, мкВ (Voltage, uV).

Для виділення і аналізу LFP сигналу з записів було проведено цифрову обробку сигналу: накладено фільтр низьких частот Баттерворта п'ятого порядку з частотою зрізу 400 Гц і даунсемплінг сигналу з  $20880 \text{ с}^{-1}/\text{канал}$  до  $1305 \text{ с}^{-1}/\text{канал}$  (рис. 2.9). Перед аналізом отриманий сигнал досліджувався візуально для видалення артефактів запису.

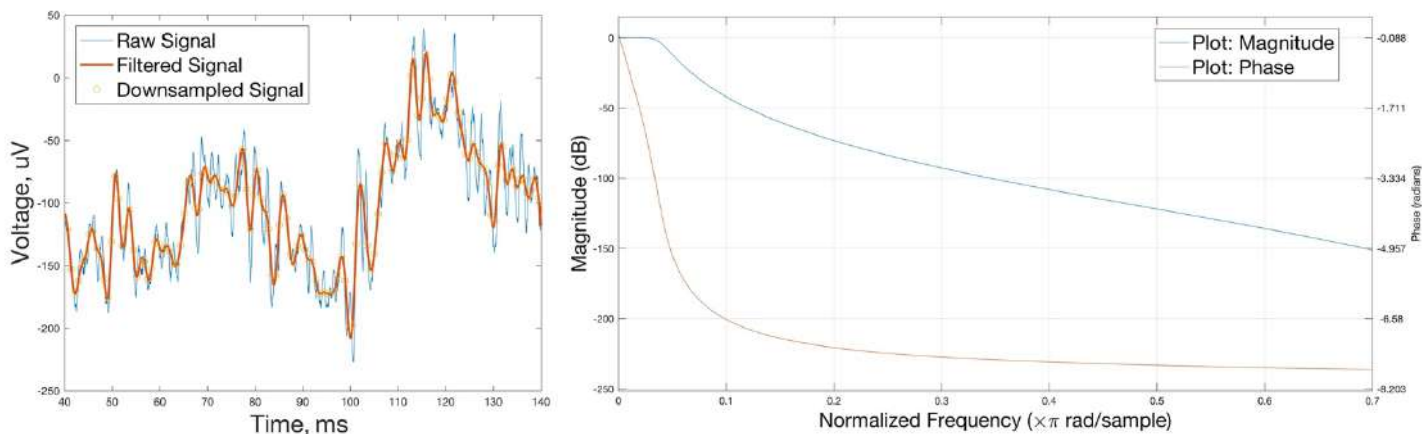


Рис. 2.9 Стадії цифрової обробки сигналу (А): синя крива (raw signal) – первинний сигнал, червона крива (filtered signal) – сигнал після цифрової фільтрації, жовті точки (downsampled signal) – сигнал після даунсемплінгу; по осі абсцис – час, с; по осі ординат – напруга, мкВ. Амплітудно-частотна характеристика (синя крива) і фазово частотна-характеристика (червона крива) цифрового фільтру Баттерворта (В): ліва вісь ординат - амплітуда, дБ, права вісь ординат – фаза, радіани; вісь абсцис – нормалізована частота, радіани/семпл.

Запис сигналу проводився на протязі 10 хвилин для отримання спонтанної активності і 20 хвилин після введення етанолу з паузою 5 хвилин між етапами для зменшення впливу сенсорної стимуляції і досягнення стабільної концентрації етанолу в тканинах мозку.

Аналіз часових серій, яким є LFP, досить складно інтерпретувати в часовому домені, де він обмежується обрахунком стандартного набору статистичних параметрів, особливо при аналізі спонтанної активності. Більше інформації дає дослідження частотних складових сигналу, оскільки саме в специфічних частотних смугах іде узгодження обробки інформації ЦНС у різних часових і просторових масштабах.

Для отримання частотного спектру сигналу використовується перетворення Фур'є, яке дає однозначну репрезентацію часової серії у частотному домені. Цей метод дав можливість отримати септограми – частотну

репрезентацію LFP LS, а також оцінити зміну частотних складових до і під час ГАІ. Алгоритм швидкого перетворення Фур'є (*fft*), імплементований в Matlab, Mathworks був використаний для отримання частотного спектру сигналу. При цьому частоти в області 49-52 Гц не включалися в аналіз.

Групування LFP спектру по смугам було проведено по специфічним смугам: дельта (1-4 Hz), тета-2 (4-8 Hz), тета-1 (8-12), бета-1 (12-16 Hz), бета-2 (16-30 Hz), низькі гама (30-65 Hz), високі гама (65-90 Hz), епсилон (ультрашвидкі осциляції) (90-200 Hz), оскільки поділ частотних смуг для гризунів включає заміну альфа частот на більш широкий інтервал тета осциляцій і розбиття інших частотних смуг на окремі підсмуги [142, 143, 144].

Спектральна густина потужності (PSD) була обрахована за допомогою метода Велша [145]. Для обрахунку була використана функція *pwelch* в Matlab з вікном Хамінга 50 мс з перекриттям 25% (роздільна здатність по частоті 0.5 Гц). Сумарна спектральна потужність кожної частотної смуги обраховувалася, як інтеграл (площа) під кривою PSD і була використана для кількісної оцінки зміни електричної активності на фоні ГАІ.

Частотно-часовий аналіз серій, як описано у [146, 147] був імплементований у Matlab з використанням вейвлет перетворення. Частотно-часові спектрограми були обраховані з використанням сімейства вейвлетів Морле з нормалізацією на фонову активність. Репрезентативні спектрограми побудовані у напівлогарифмічному масштабі.

Пікові частоти і потужності частотних смуг представлені як медіана  $\pm$  стандартне відхилення ( $median \pm SD$ ). Статистична оцінка базової активності і активності на фоні ГАІ була проведена за допомогою U-теста Мана-Уїтні (поріг  $P < 0.05$  був визначений, як статистично достовірний).

## 2.5 Запис, цифрова обробка, аналіз і статистична обробка нейронного шуму

Сигнал для аналізу нейронного шуму отримано, як описано в попередній секції (див. *Запис, цифрова обробка, аналіз і статистична обробка LFP*).

Нейронний шум був виділений з основного спектру. Оцінка поведінки нейронного шуму була отримана на основі аналізу виокремлених спектрів.

Нейронний шум описується степеневою залежністю типу  $1/f^\beta$ , де  $f$  – частота, а  $\beta$  - параметр, який характеризує аритмічну активність. Моделювання PSD нейронного шуму лінійною залежністю у подвійних логарифмічних координатах використовується для оцінки його динаміки [108]. Для потрібної частини спектра будуються лінійні моделі, які описують поведінку нейронного шуму і по нахилу модельованої кривої –  $\beta$ , згідно рівняння лінійної регресії (1), визначається відповідно збільшення чи зменшення нейронного шуму у сигналі:

$$\log(P) = \alpha - \beta \log(f) \quad (1),$$

де  $P$  – PSD аритмічної активності,  $f$  – частота,  $\beta$  – коефіцієнт нахилу кривої,  $\alpha$  – коефіцієнт перетину кривої з віссю ординат.

Для оцінки спектральних характеристик мозкової активності для специфічних частотних смуг як правило використовувався вищеописаний метод Велша, але отримані PSD містять, як осциляторну активність, пов'язану з узгодженою активністю нейронів, так і фрактальну або аритмічну активність, відому, як нейронний шум. При цьому виражені осциляції сильно впливають на оцінку нейронного шуму. Декілька методів було запропоновано для відділення осциляторної і аритмічної активностей з загального спектру сигналу [147, 148]. В нашому дослідженні ми використали методику Irregularly Resampled AutoSpectral Analysis (автоспектральний аналіз з іррегулярним ресемплінгом або IRASA), запропоновану Wen і Liu [149, 150].

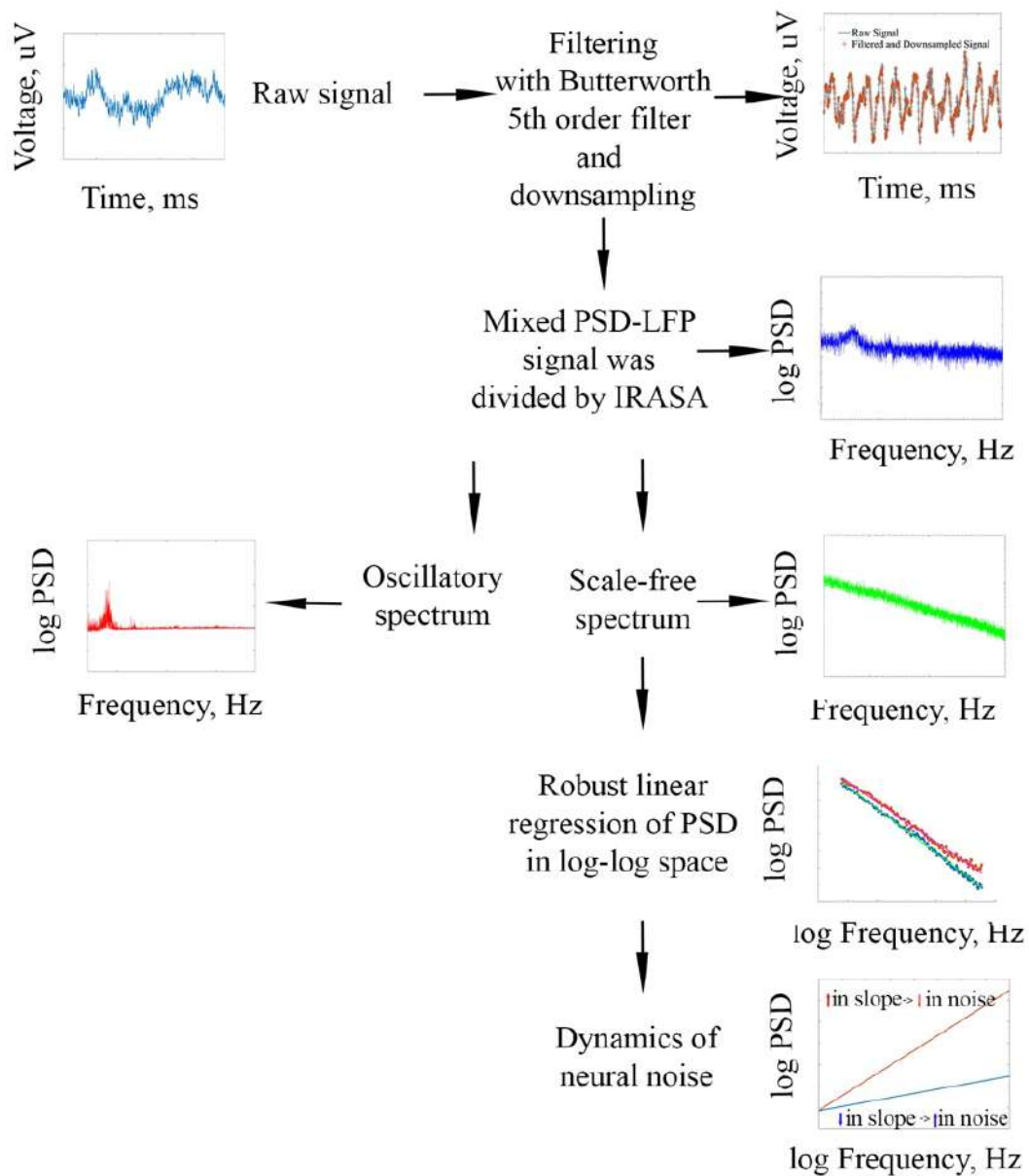
Алгоритм IRASA був імплементований в Matlab (вихідний код представлений Wen і Liu в [149]) для точної оцінки аритмічної активності сигналу LFP LS. В IRASA використовується наступний алгоритм для відділення осциляторної і аритмічної активності спектра сигналу:

- Дані для аналізу розбиваються на 15 сегментів
- Для кожного сегменту виконується швидке перетворення Фур'є (*fft*)
- Спектри усереднюються для отримання змішаного спектру сигналу
- Проводиться ресемплінг сегментів сигналу з фактором  $h$  та  $1/h$  для  $h$  від 1.1 до 1.9 з кроком 0.05
- Для кожного сегменту після ресемплінгу виконується швидке перетворення Фур'є (*fft*)
- Середнє геометричне по спектру розраховується для кожного фрагменту для кожного  $h$  та  $1/h$
- Аритмічна частина спектру виділяється, як медіана для всіх значень  $h$

Детальний опис алгоритму представлений в оригінальних роботах [149, 150].

Для моделювання нейронного шуму лінійними моделями (апроксимація даних аритмічної частини спектру в подвійних логарифмічних координатах) – лінійна регресія була імплементована в Matlab (функцією *robustfit*). Був отриманий набір лінійних рівнянь для частотних смуг дельта, тета, бета, гамма, ультрашвидкої зони та всього досліджуваного спектру. Далі були обраховані та оцінені параметри лінійних моделей, з яких параметр нахилу кривої  $\beta$  містив необхідну інформацію про поведінку нейронного шуму, де збільшення нахилу моделюваної прямої інтерпретується, як зменшення нейронного шуму і зменшення нахилу, відповідно, як наростання нейронного шуму.

Схематично процес обробки даних представлений на рис. 2.10.



**Рис. 2.10.** Схема обробки даних для отримання оцінки динаміки нейронного шуму:

Raw signal – вихідний сигнал; PSD – спектральна густина потужності сигналу; LFP – локальний польовий потенціал; IRASA - автоспектральний аналіз з іррегулярним ресемплінгом; Oscillatory spectrum – осциляторна частина спектру; Scale-free spectrum – аритмічна активність; Robust linear regression – робастна лінійна регресія; Dynamics of neural noise – динаміка нейронного шуму



Параметри моделі  $\beta$  представлені як медіана  $\pm$  стандартне відхилення (median  $\pm$  SD). Статистична оцінка поведінки нейронного шуму під час базової активності і активності на фоні ГАІ була проведена за допомогою U-теста Манна-Уїтні (поріг  $P < 0.05$  був визначений, як статистично достовірний).

## 2.6 Гістологічні приготування, гістохімія і мікроскопія зразків, статистичний аналіз даних

Докладно опис методики наведений в протоколі [151] і роботах [152, 153]. Методика заснована на гістохімічній ідентифікації НАДФН-діафори, яка колокалізується з NOS – такі забарвлені структури є NOS-позитивними.

Досліджуваних тварин анестезували розчином тіопенталу натрію – 75 мг/кг (іп), після чого проводилось відкриття грудної клітки і катетеризація висхідної аорти. Через катетер проводилась процедура перфузії рядом розчинів (1 перфузія – фосфатний буфер + 0.2% розчин нітриту натрію + 5000 МО гепарин сульфату/кг ( $t = 37^\circ\text{C}$ ); 2 перфузія – 4% розчин параформальдегіду на 1М фосфатному буфері ( $\text{pH} = 7.4$ ;  $t = 4^\circ\text{C}$ ) для прижиттєвої фіксації тканин мозку. Після перфузії мозок додатково фіксували у 4% розчині параформальдегіду на 1М фосфатному буфері (24 години). Після фіксації мозок розрізали на сегменти і проводили кріопротекцію. На заморожуючому мікротомі з фіксованих сегментів були отримані фронтальні зрізи мозку товщиною 40 мкм.

Для гістохімічного маркування nNOS-позитивних нейронів отримані зрізи інкубували на протязі 3 годин у термостаті при  $t = 37^\circ\text{C}$  у розчині 1М фосфатного буферу з редукованим бета-НАДФН (0.5 мг/мл, Sigma-Aldrich, Germany), нітроблакитним тетразолієм (0.2 мг/мл), малоновою кислотою (1.2 мг/мл, Sigma-Aldrich, Germany). NOS-позитивні нейрони ідентифікували по фіолетовому забарвленню цитоплазми за допомогою оптичного бінокулярного мікроскопа.

Кількісний аналіз NOS-позитивних нейронів та фотографування забарвлених зрізів проводили за допомогою оптичного біноккулярного мікроскопа, оснащеного камерою. Межі аналізованих структур визначалися відповідно до атласу мозку Paxinos&Watson [138]. Аналізувалися зрізи, що відповідали координатам AP: [-0.48 +0.48] mm від брегми. Кількість нейронів оцінювалася, як кількість клітин на зріз в області, що відповідала LS. Густина нервових волокон (низька, середня, висока) і фонове забарвлення (слабоінтенсивне, середньоінтенсивне і високоінтенсивне) оцінювалися візуально.

Статистична обробка включала розрахунок медіан і стандартних відхилень ( $\text{median} \pm \text{SD}$ ) для NOS-позитивних нейронів кожної із груп та порівняння між групами, яке було проведено за допомогою одностороннього дисперсійного аналізу Крассела-Уолліса (значення  $P < 0.05$  приймалося, як статистично достовірна різниця). Статистичний аналіз здійснювався в середовищі Matlab, Mathworks.

В рамках нашого дослідження була розроблена система реєстрації електричної активності мозку, концепція и валідація якої опубліковано в статті:

- Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>

та в матеріалах наукової школи:

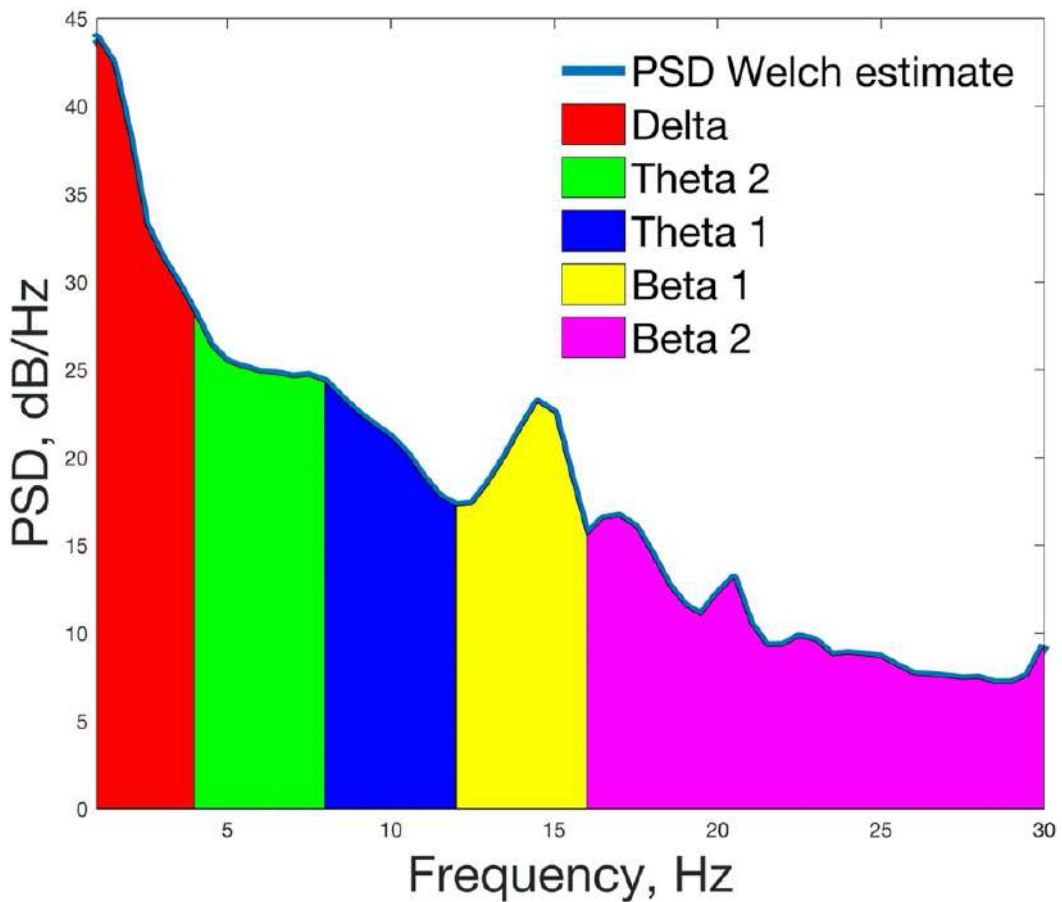
Chaikovska, O. V. (2019). Backpack-type multichannel electrophysiology system for freely behaving rodents. Book Of Abstracts. FENS-SFN “BRAIN READING AND WRITING: NEW PERSPECTIVES OF NEUROTECHNOLOGY”, 2-8 June 2019, Bertinoro University Centre (CeUB), Italy, 36-37.

## РОЗДІЛ 3

### ОСОБЛИВОСТІ ЛОКАЛЬНОГО ПОЛЬОВОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА ПІД ЧАС ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

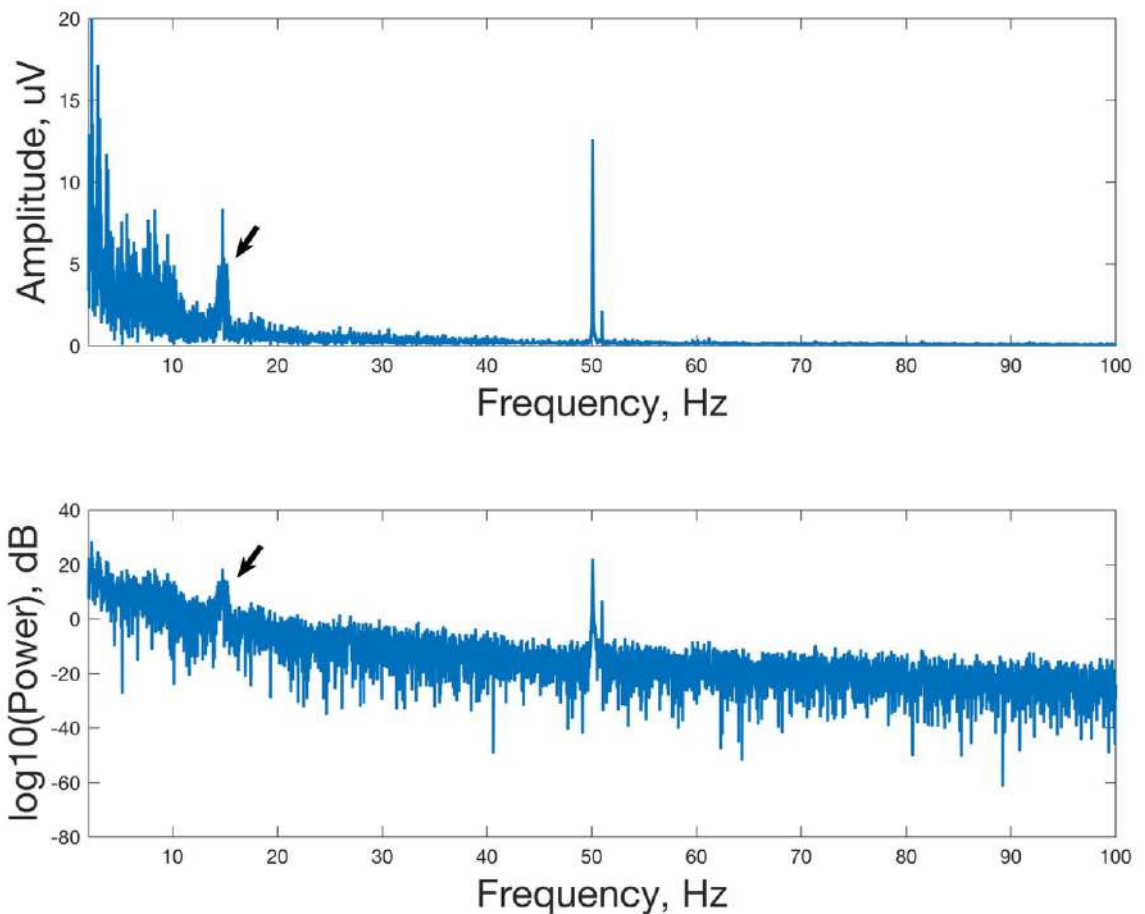
Аналіз часових серій сигналу мозку у часовій області, особливо спонтанної активності або ж активності, пов'язаної зі стимулом, дія якого жорстко не закріплена до конкретного моменту часу, досить складно інтерпретується. На разі, стандартним методом аналізу мозкових сигналів, таких як ЕЕГ, ЕКоГ, МЕГ і LFP є аналіз в частотній області або в часово-частотному домені. Більше того різні процеси в мозку, які відбуваються у різних масштабах мають свою репрезентацію в саме в специфічних частотних областях. Частотний і частотно-часовий аналіз представляє додаткові виміри для аналізу мозкової активності.

Фур'є перетворення сигналу, а саме швидке перетворення Фур'є (див. Матеріали і методи), LFP отриманого з латерального септума для фонові активності та під час ГАІ було застосовано для отримання і аналізу структури спектрів фонові активності і активності, індукованої дією етанолу - були побудовані і оцінені відповідні спектри. Оскільки LFP є нестационарним сигналом, то для кількісної оцінки потужності окремих частотних смуг і підсмуг краще підходить не розрахунок по первинним Фур'є спектрам, а оцінка по згладженим кривим спектральної густини потужності, які ми отримали за допомогою метода Велша (див. Матеріали і методи). Сумарна потужність по частотним смугам була порахована як площа під кривою спектральної густини, як показано на рис. 3.1.



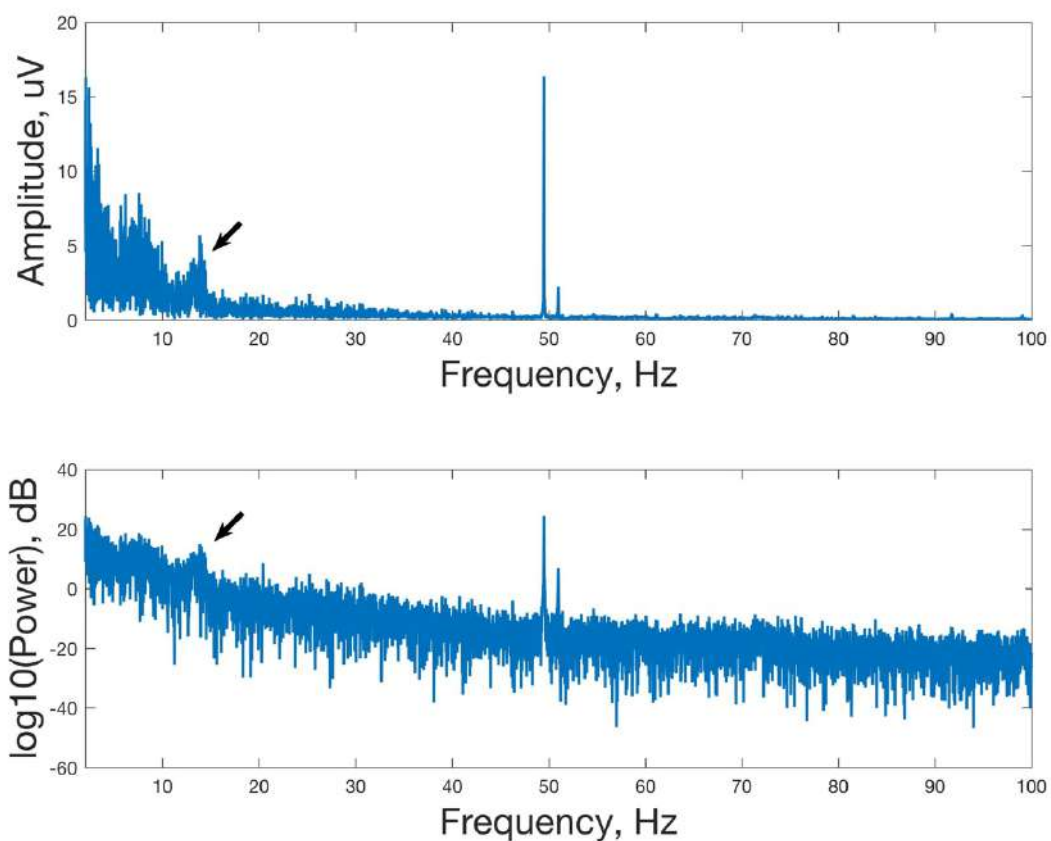
**Рис. 3.1** Розрахунок потужності частотних смуг локального польового потенціалу (площі під кривою спектральної густини, оціненою методом Велша); по осі абсцис – частоти, Гц; по осі ординат – спектральна густина, дБ/Гц; потужність смуги оцінювалась, як інтеграл кривої спектральної густини по відповідним частотам смуги; блакитна крива – густина спектральної потужності, обрхована методом Велша, червона зона відповідає потужності дельта смуги, зелена зона – потужності тета-2, синя – тета-1, жовта – бета-1, рожева – бета-2.

Спектри LFP LS мали типовий степеневий розподіл, коли на долю низьких частот припадає найбільша потужність і потужність спадає з наростанням частоти як  $1/f^\alpha$  як для базової активності (рис. 3.2), так і для активності під час ГАІ (рис. 3.3).



**Рис. 3.2.** Амплітуда (верхній графік) Фур'є спектру сигналу LFP базової активності (по осі ординат – амплітуда у мкВ, по осі абсцис частота, Гц) та потужність сигналу LFP базової активності (по осі ординат – потужність у дБ, по осі абсцис частота, Гц)

Аналіз структури спектру виявив чіткий пік в бета-1 області з центром на  $14.77 \pm 0.22$  Гц для фонової активності. Під час ГАІ спостерігалось зміщення піку на  $\sim 1$  Гц в низькочастотну область з новим центром на  $13.70 \pm 0.12$  Гц з одночасним зниженням потужності, яка припадала на пік ( $p < 0.05$ ).



**Рис. 3.3.** Амплітуда (верхній графік) Фур'є спектру сигналу LFP активності LS під час гострої алкогольної інтоксикації та потужність сигналу LFP під час гострої алкогольної інтоксикації (нижній графік); позначення осей таке саме, як на рис. 3.2

Також була порахована потужність для всіх частотних смуг для спонтанної активності та активності під час ГАІ. Отримані результати підсумовані у табл. 3.1.

На фоні інтоксикації ми спостерігали зміни потужності по всім частотним смугам для зони LS, що підтверджує його активну роль у процесингу алкогольних стимулів (рис. 3.4). Статистично значимі результати отримані для дельта, бета, гама частотних областей та ультрашвидких осциляцій. Найбільш

виражені зміни, викликані інтоксикацією етанолом, стосувалися областей дельта, бета та ультрашвидких осциляцій.

Таблиця 3.1.

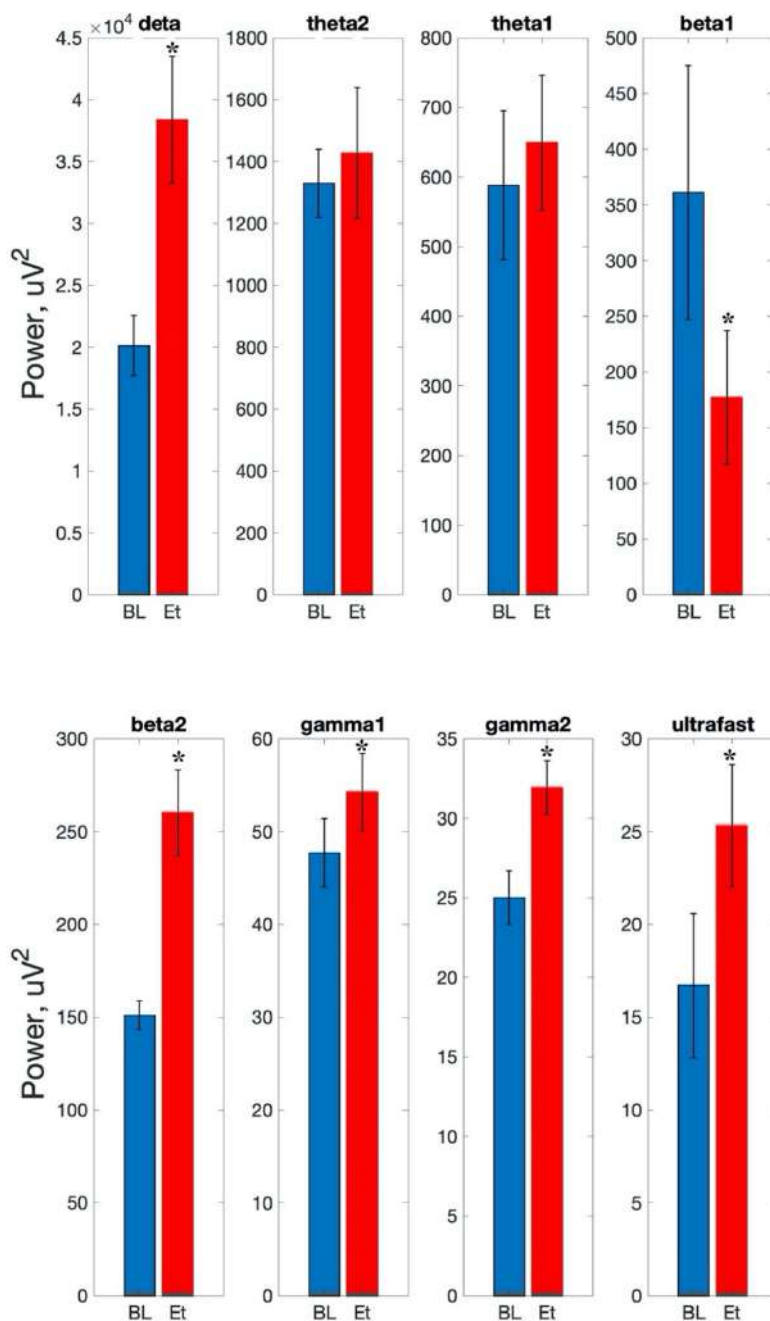
**Потужність для специфічних частотних смуг LFP сигналу LS**

Frequency band	Потужність, $\mu V^2$ : Фонова активність	Потужність, $\mu V^2$ : ГAI	Відносні зміни, %	P-value
Дельта	20110 ± 2442	38362 ± 5138	+ 90.75%	<b>P &lt;0.05</b>
Тета 2	1330 ± 111	1427 ± 211	+ 7.31%	P>0.05
Тета 1	588 ± 107	649 ± 97	+ 10.45%	P>0.05
Бета 1	361± 114	177 ± 60	-50.97%	<b>P &lt;0.05</b>
Бета 2	151 ± 7.7	260 ± 23.2	+ 72.02%	<b>P&lt;0.05</b>
Низькі гамма	47.7 ± 3.7	54.2 ± 4.2	+ 13.58%	<b>P&lt;0.05</b>
Високі гамма	25.0± 1.7	31.9 ± 1.7	+ 27.51%	<b>P&lt;0.05</b>
Ультрашвидкі	16.7 ± 3.9	25.3 ± 3.3	+ 51.49%	<b>P &lt;0.05</b>

Збільшення активності з відповідним збільшенням потужності осциляцій спостерігалось для дельта на +90.75% ( $p < 0.05$ ), тета-2 на +7.31% і тета-1 на +10.45% ( $p > 0.05$ ), бета-2 на +72.02% ( $p < 0.05$ ), низьких гамма на + 13.58% ( $p < 0.05$ ), високих гамма на +27.51% ( $p < 0.05$ ), і ультрашвидких осциляцій на +51.49% ( $p < 0.05$ ). Зменшення потужності на -50.97% було зареєстровано в бета-1 частотній смузі ( $p < 0.05$ ).

Хоча репрезентація сигналів мозку в частотному домені дозволяє отримати масу інформації, щодо того, як етанол змінює LFP LS, але не дає відповіді на питання, чи є зміни осциляторної активності стабільними у часі і на

скільки. Щодо аналізу осциляцій зв'язаних з подією, необхідно також знати, коли саме та чи інша частота з'являється відносно події чи стимула.



**Рис. 3.4.** Порівняння потужності частотних смуг LFP сигналу, записаного з LS під час базової активності (BL) і на фоні гострої алкогольної інтоксикації (EtOH); по осі ординат - потужність,  $\mu V^2$ ; BL – спонтанна активність, Et – активність під час гострої алкогольної інтоксикації

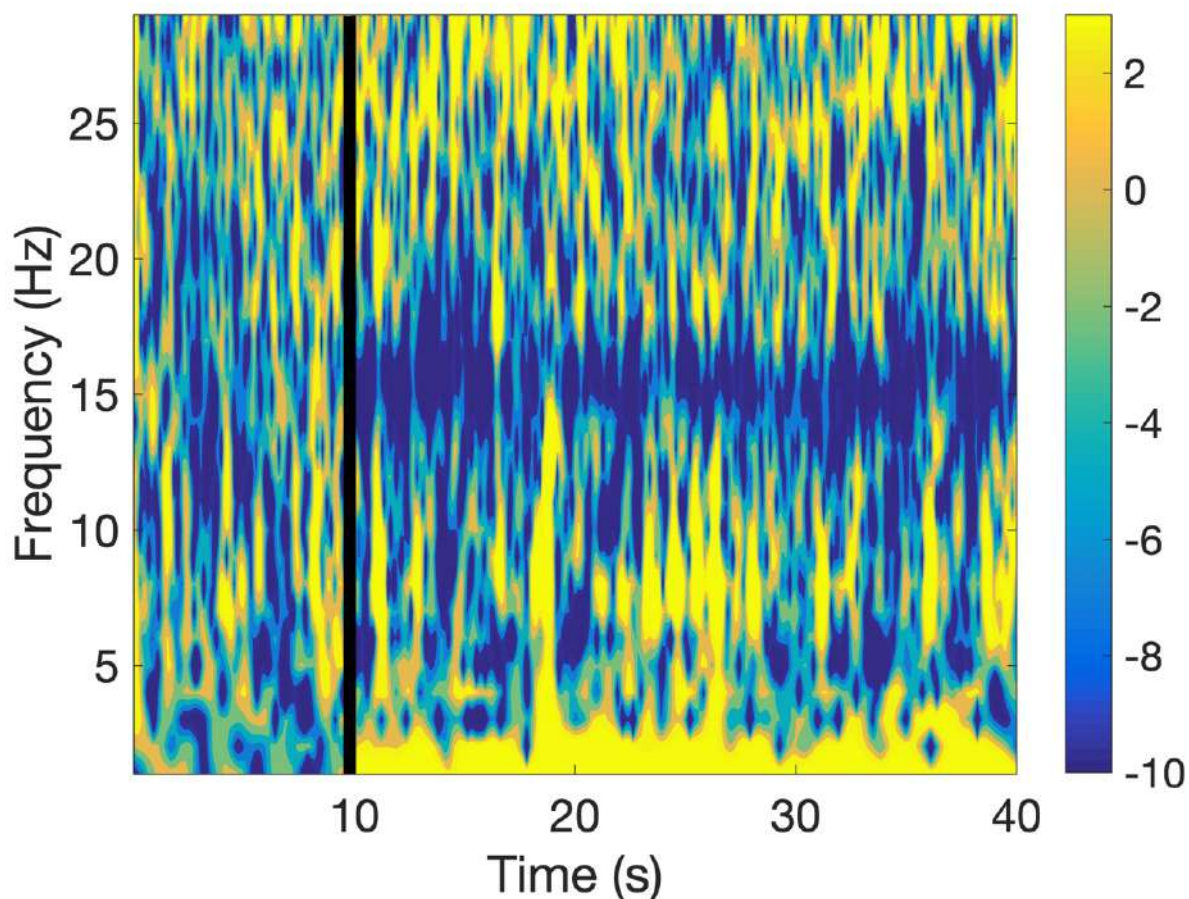


Частотно-часовий аналіз, який почав активно використовуватися для аналізу часових серій останні два десятиріччя може відповісти на всі ці питання.

Ми провели частотно-часовий аналіз LFP LS, який виявив, що описані осциляторні зміни індукуються зразу після введення етанолу та є стабільними на всьому протязі запису. На рис. 3.5-3.7 наведені репрезентативні сегменти частотно-часових спектрограм для досліджуваного діапазону частот. Всі спектрограми розділені на дві області, які відображають ритмічну активність LS для фонового періоду і активність, індуковану ГАІ. Спектрограми представляють собою частотну характеристику сигналу LS і як вона змінюється з часом, тобто вони є двомірним представленням трьох характеристик сигналу – частоти, моменту часу, в який ця частота присутня та її потужності, де потужність частоти в кожний момент часу показана відповідним кольором. При наростанні потужності частоти в сигналі у визначений момент часу це буде відображено на спектрограмі, як зсув відповідної області графіку в жовту частину спектру. Супресія осциляторної активності сигналу буде візуалізуватися, відповідно, як зсув у частотно-часовій області діаграми в синю область спектру.

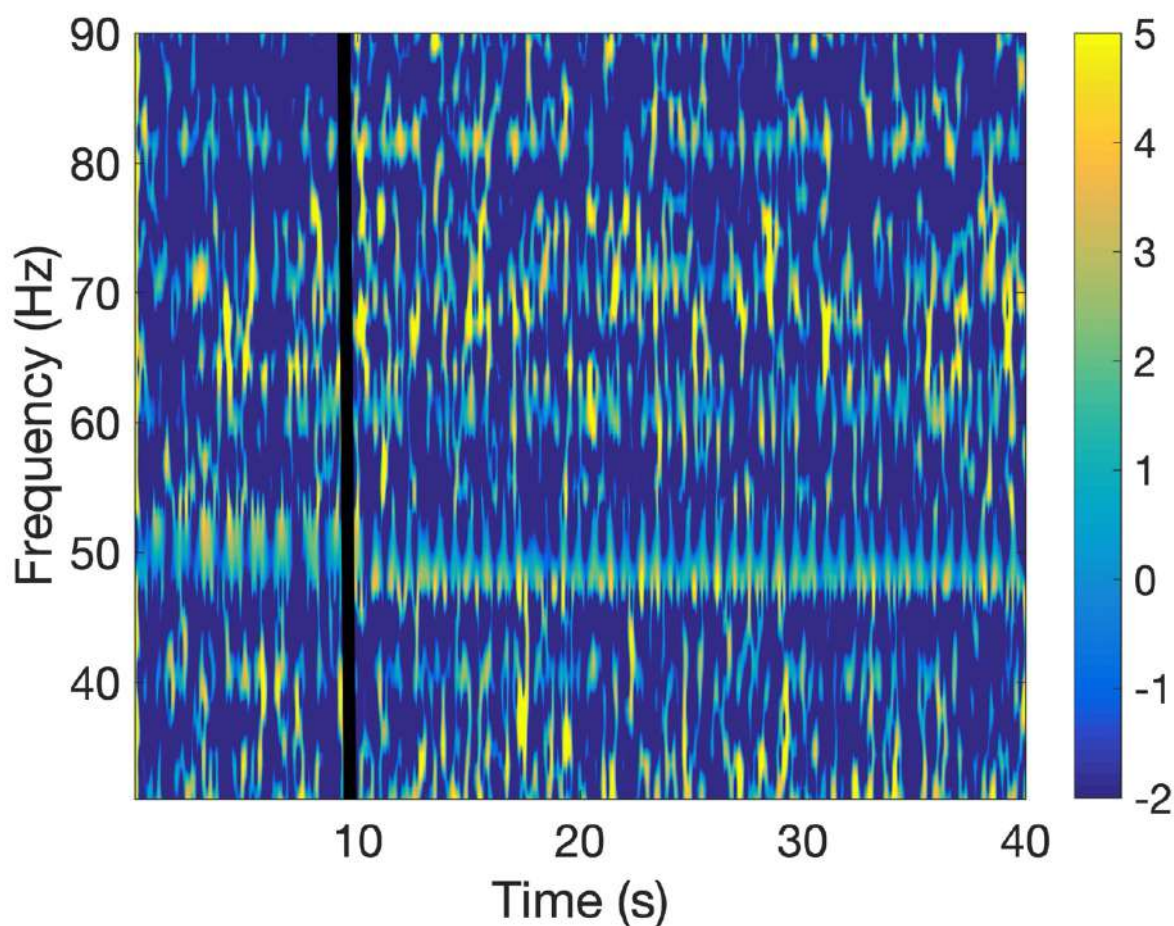
Для дельта, тета і бета-2 частотних областей (Рис.3.5) спостерігалась інтенсифікація осциляторної активності, при цьому в бета-1 частотній смузі ГАІ викликала супресію активності для всього періоду запису, як видно зі спектрограми. Особливо визначні зміни по відношенню до спонтанної активності відповідали частотним областям дельта і бета, що також підтверджує вищеописаний кількісний аналіз спектрів.

Спектр LFP LS як для фонові активності так і під час ГАІ має степеневий розподіл з вираженими піками в тета і бета-1 частотних смугах.



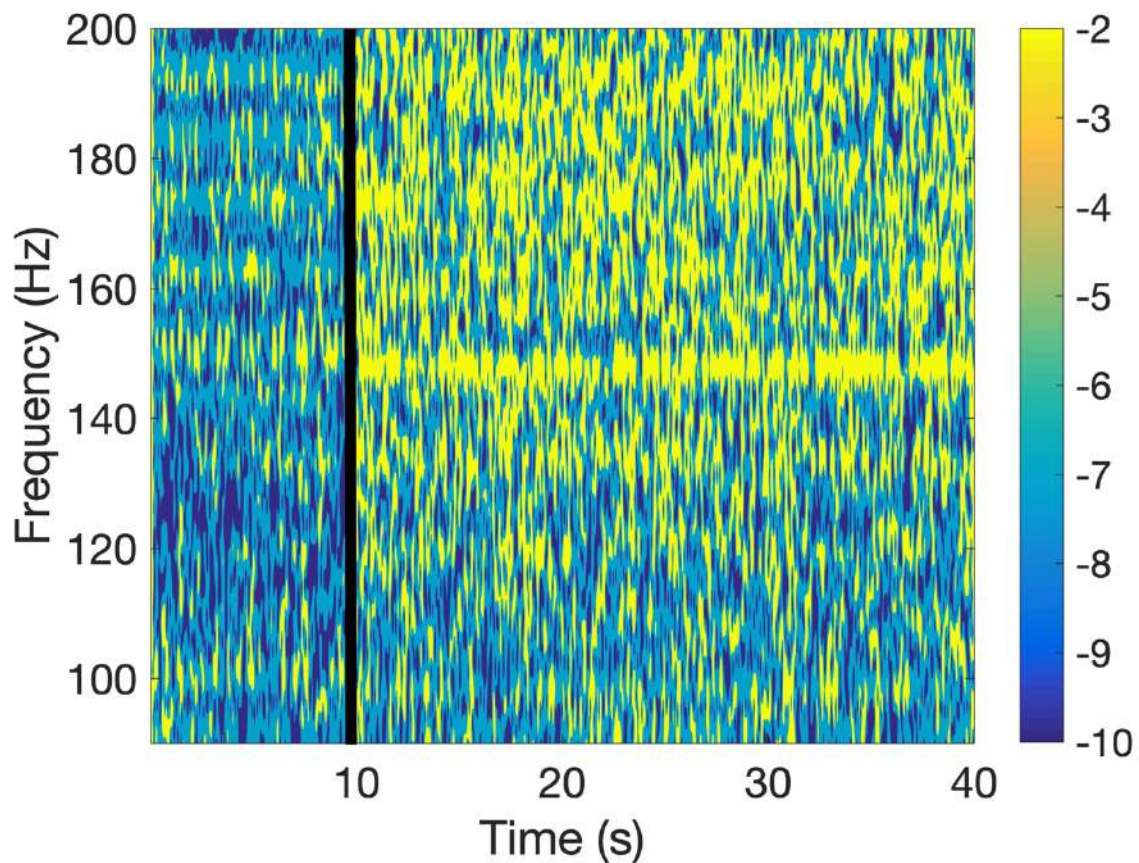
**Рис. 3.5.** Спектрограма LFP сигналу LS базової активності і під час періоду гострої алкогольної інтоксикації для діапазону частот 1 - 30 Гц, що відповідає дельта, тета і бета областям; по осі ординат – частота, Гц; по осі абсцис – час, с; періоди базової активності і гострої алкогольної інтоксикації розділені чорною лінією.

Рис. 3.6 та Рис. 3.7 підтверджують наростання осциляторної активності у динаміці для гама частотної області і ультрашвидких осциляцій після введення етанолу експериментальним тваринам. Тут найбільші зміни по відношенню до фонові активності відбулися в області ультрашвидких осциляцій.



**Рис. 3.6.** Спектрограма LFP сигналу LS базової активності і під час періоду гострої алкогольної інтоксикації для діапазону частот 30 - 90 Гц, що відповідає гамма частотній області; по осі ординат – частота, Гц; по осі абсцис – час, с; періоди базової активності і гострої алкогольної інтоксикації розділені чорною лінією

Пік, що відповідає бета-1 осциляторній активності центрований на 14.77 Гц. ГАІ призвела до зміщення піку в низькочастотну область на  $\sim 1$  Гц. ГАІ змінила сумарну спектральну потужність у всіх досліджуваних частотних



**Рис. 3.7.** Спектрограма LFP сигналу LS базової активності і під час періоду гострої алкогольної інтоксикації для діапазону частот 90 - 200 Гц, що відповідає частотній області ультрашвидких осциляцій; по осі ординат – частота, Гц; по осі абсцис – час, с; періоди базової активності і гострої алкогольної інтоксикації розділені чорною лінією

смугах, призвевши до активації осциляторної активності по всім смугам, окрім бета-1 частотної області, де ми спостерігали зменшення спектральної потужності в порівнянні з фоновою активністю. Частотно-часовий аналіз виявив, що дані зміни стабільні на протязі всього запису і не повернулися до вихідного рівня.

**Результати досліджень**, які представлені у даному розділі дисертації, відображені нами в 2 статтях у фахових наукових виданнях України



- Chaikovska, O. V., Rokunets, I. L., Dovhan, O. V., & Vlasenko, O. V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology*, 53(1), 30-40.
- Чайковська, О. В. (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104..

та в тезах науково-практичної конференції:

Чайковська, О.В. (2021). Зміни локального польового потенціалу латерального септума в області бета частот під час гострої алкогольної інтоксикації. Матеріали XVIII міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021», Вінниця, 15-17 квітня 2021 р., Вінниця: Міністерство охорони здоров'я України, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 557-558.

## РОЗДІЛ 4

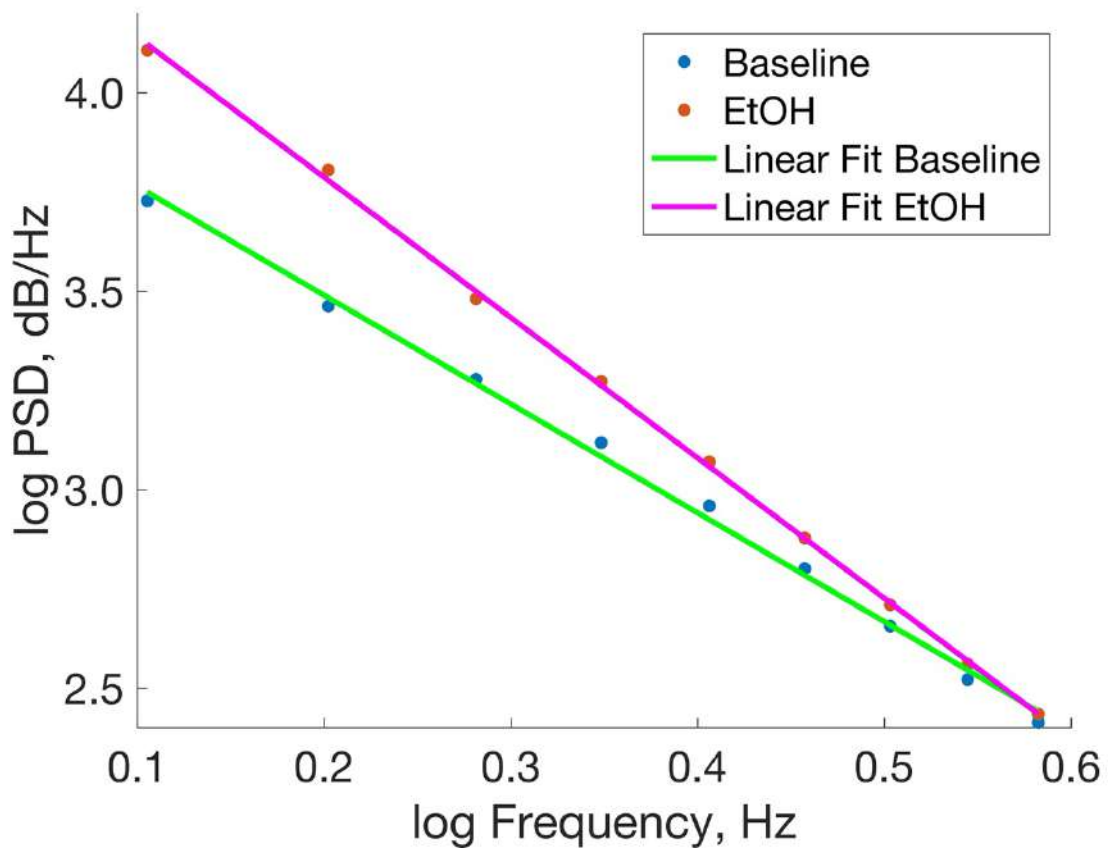
### ОСОБЛИВОСТІ АРИТМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ (НЕЙРОННОГО ШУМУ) ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА ПІД ЧАС ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Нейронний шум (або аритмічна/фрактальна активність), зареєстрований в області LS був виділена із загального спектру алгоритмом IRASA (див. Матеріали і методи) та Wen & Liu [149].

Отримана фрактальна активність LS для фонової активності і активності під час ГАІ вкладалася в лінійний тренд у подвійних логарифмічних координатах, що дозволило використати моделі лінійної регресії для опису поведінки нейронного шуму. Експериментальні дані були апроксимовані лінійними залежностями методом робастної регресії (*robust regression*). Були побудовані модельні фіти і пораховані регресійні рівняння для кожної частотної області і для всього діапазону частот. Зміна динаміки нейронного шуму аналізувалась по зміні нахилу кривої лінійної регресії, розрахованої для фрактальної частини спектрів PSD-LFP LS, оціненої кількісно по зміні регресійного коефіцієнту  $\beta$  лінійних фітів. Збільшення нахилу кривої інтерпретувалося як зменшення нейронного шуму, зменшення нахилу регресійної лінії – як зростання фрактальної активності або нейронного шуму.

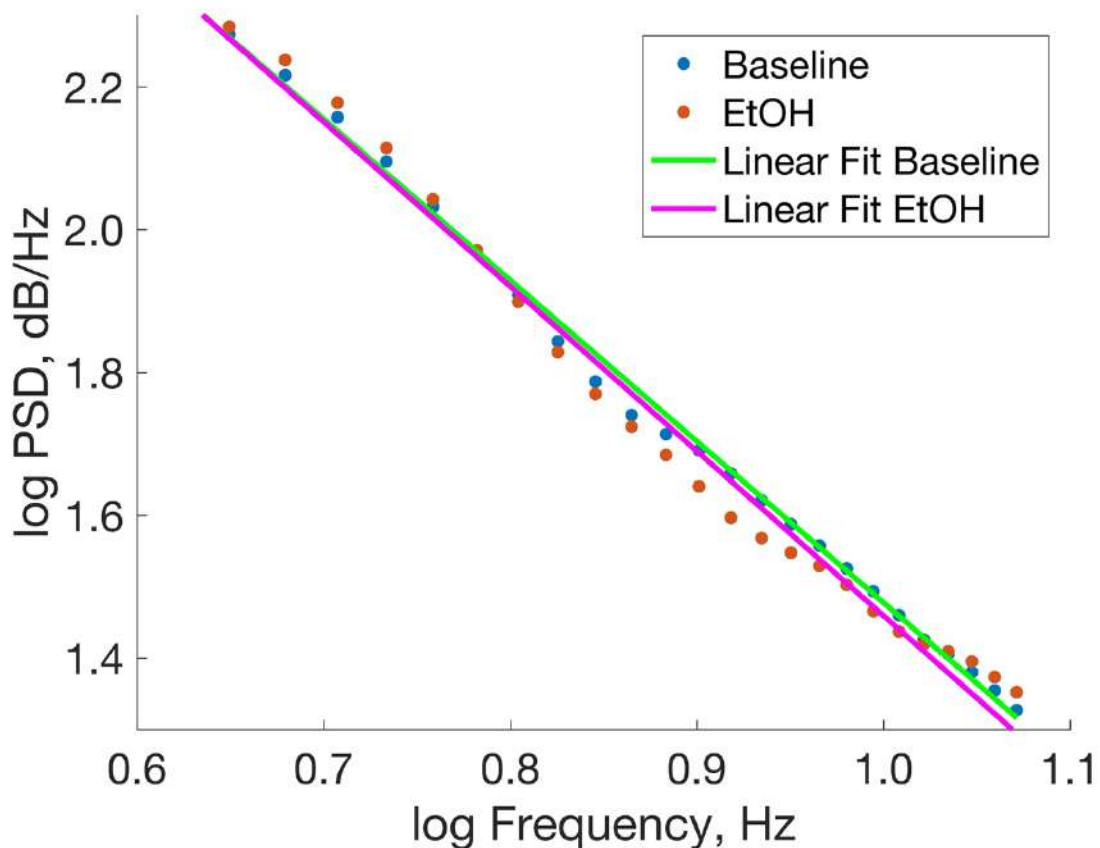
Лінійні залежності були побудовані для специфічних частотних смуг - дельта (1-4 Гц), тета (4-12 Гц), бета (12-30 Гц), гамма (30-90 Гц), епсилон (ультрашвидкі осциляції 90-200 Гц) та для всього спектру (1 – 200 Гц).

ГАІ призвела до збільшення нахилу кривої в області дельта і зменшення коефіцієнта регресії  $\beta$  з  $-2.74 \pm 0.24$ , CI95 (-2.86 -2.62) для спонтанної активності до  $-3.53 \pm 0.40$ , CI (-3.60 -3.46) для активності під дією етанолу ( $P < 0.01$ ) (рис. 4.1).



**Рис. 4.1.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для дельта частотної смуги (1-4 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

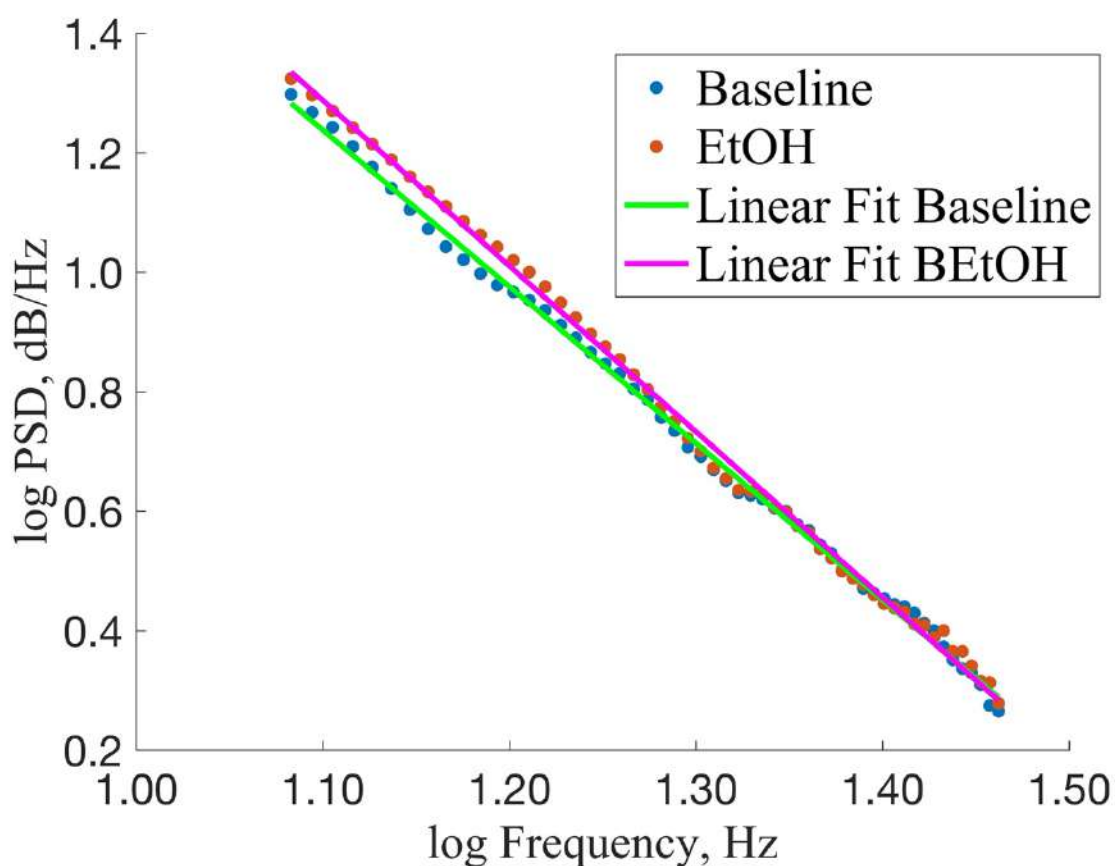
В тета частотній зоні нахил кривої збільшився, а модуль коефіцієнта регресії  $\beta$  зменшився з  $-2.25 \pm 0.53$ , CI95 (-2.29 -2.21) для спонтанної активності до  $-2.34 \pm 0.57$ , CI95 (-2.45 -2.23) для періоду ГАІ ( $P > 0.05$ ), (рис. 4.2).



**Рис. 4.2.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для частотної смуги тета (4-12 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

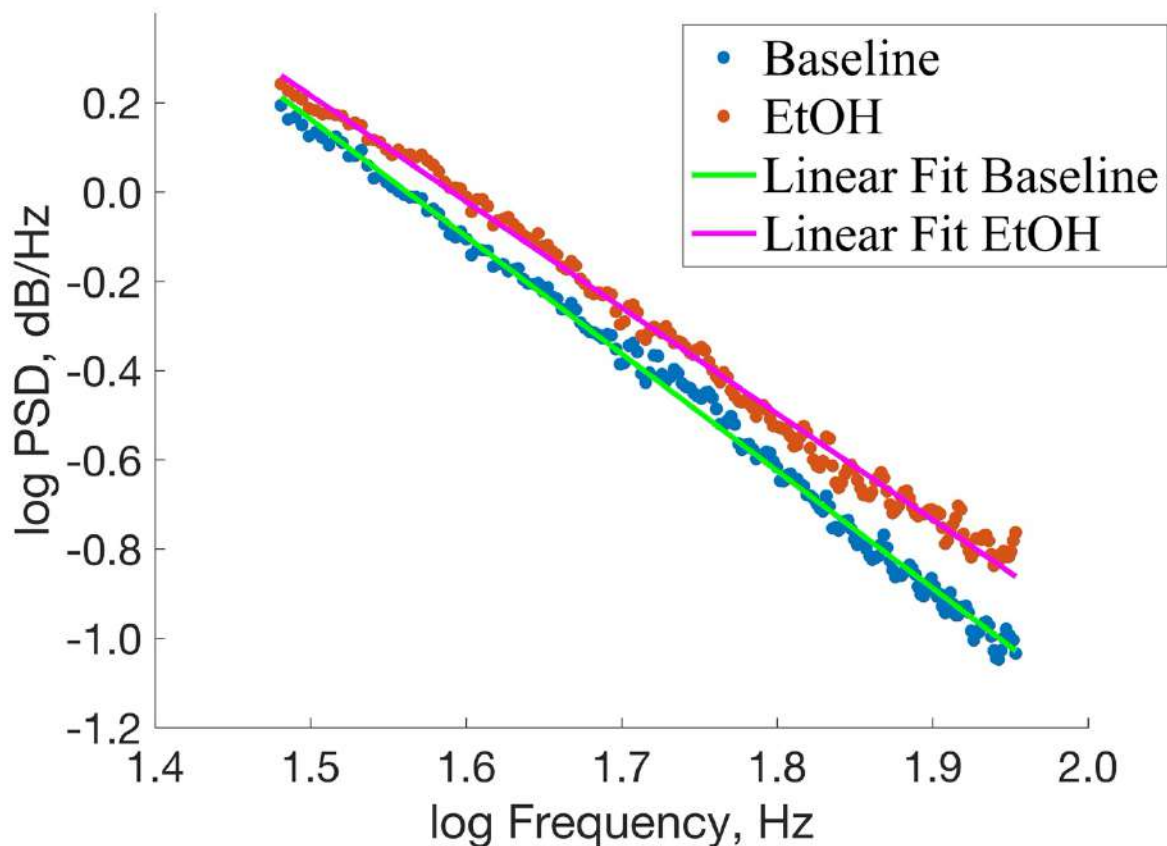
Та ж тенденція прослідковувалася для бета частотної смуги (12-30 Гц), де ми спостерігали зменшення фрактальної активності (рис. 4.3), що проявлялося як збільшення нахилу кривої лінійного фіту експериментальних даних і зменшення коефіцієнта регресії  $\beta$  з  $-2.61 \pm 0.30$ , CI95(-2.64 -2.58) для спонтанної активності до  $-2.79 \pm 0.31$ , CI95(-2.83 -2.75) для активності під дією етанолу, ( $P < 0.05$ ).





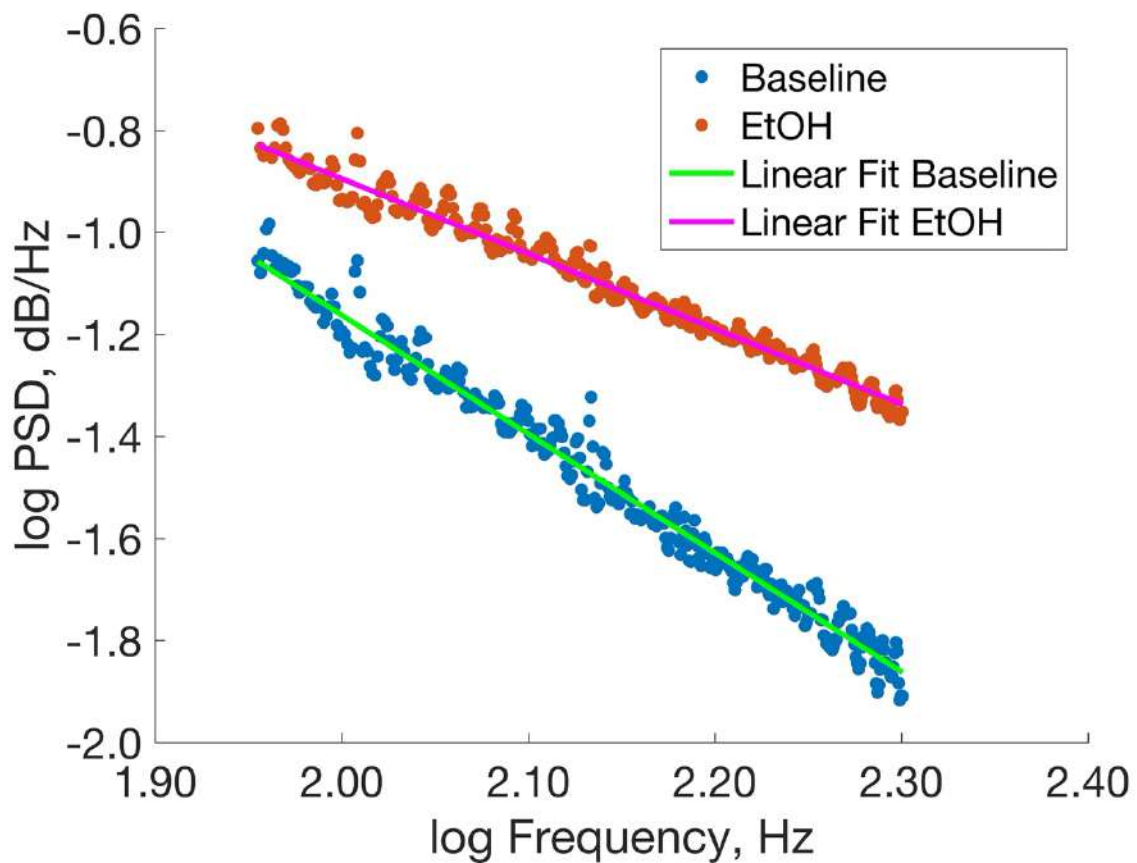
**Рис. 4.3.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для частотної смуги бета (12-30 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

В дельта частотній смузі (30-90 Гц) тенденція змінилася на протилежну, нахил кривої зменшився, що інтерпретується в концепції нейронного шуму, як наростання фрактальної активності. Модуль коефіцієнта регресії  $\beta$  збільшився з  $-2.61 \pm 0.32$ , CI95 (-2.65 -2.59) для фонового спектру до  $-2.37 \pm 0.27$ , CI95 (-2.39 2.34) після ін'єкції етанолу ( $P < 0.05$ ), (рис. 4.4).



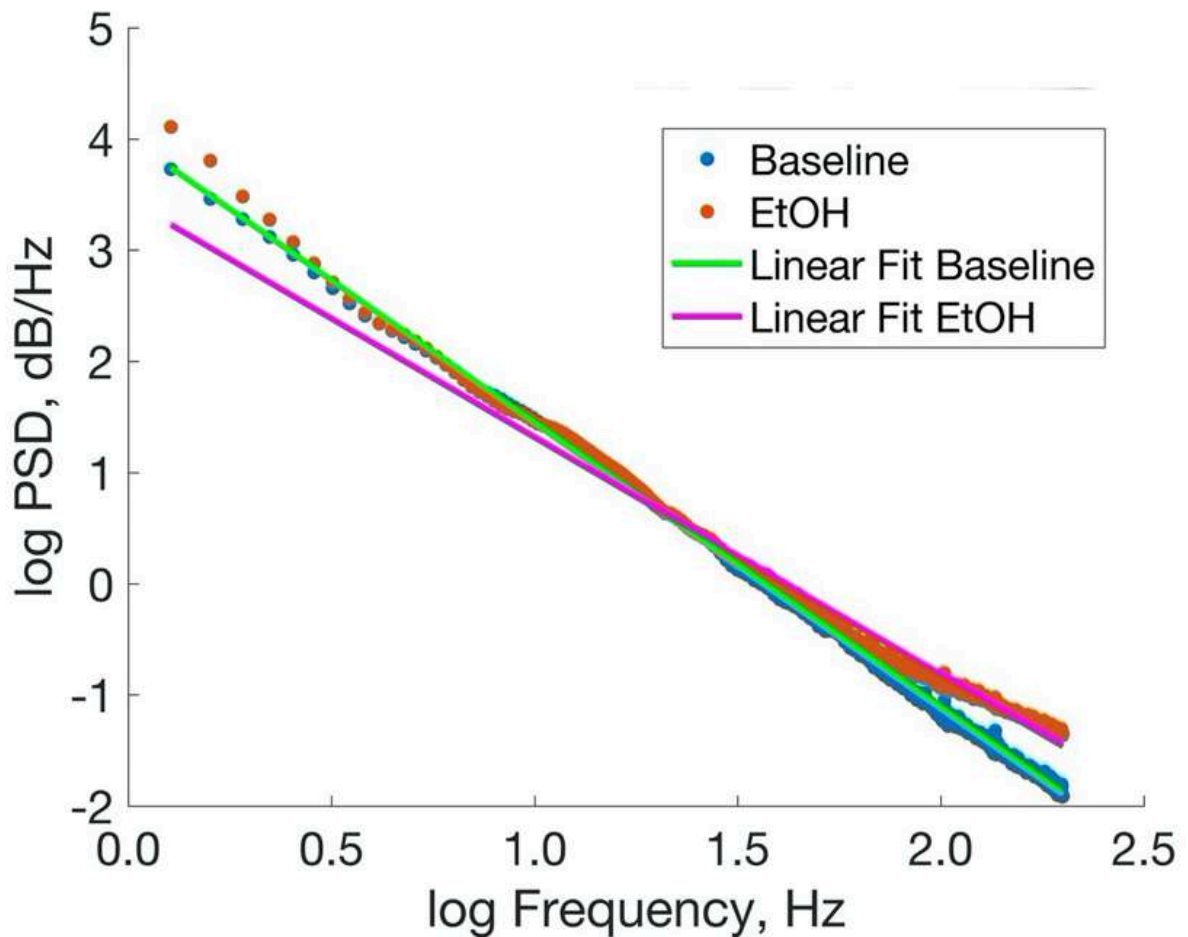
**Рис. 4.4.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для частотної смуги дельта (30-90 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

В зоні ультрашвидких осциляцій ми спостерігали подальше сплюснення спектральних експериментальних кривих на фоні ГАІ (рис.4.5). Нахил регресійної кривої зменшився, коефіцієнт  $\beta$  збільшився з  $-2.33 \pm 0.26$ , CI95(- 2.36 - 2.29) для спонтанної активності до  $-1.47 \pm 0.10$ , CI95(- 1.49 - 1.44) після введення етанолу, ( $P < 0.01$ ).



**Рис. 4.5.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для частотної смуги епсилон/ультрашвидких осциляцій (90-200 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

Фрактальна активність для всього спектрального діапазону частот мала тенденцію до сплюснення фітованих кривих на фоні ГАІ. Фіксувалось зменшення нахилу ліній регресії і збільшення регресійних коефіцієнтів  $\beta$  з  $-2.57 \pm 0.30$ , CI95 (-2.58 -2.56) для спонтанної активності і  $-2.15 \pm 0.23$ , CI95 (-2.14 -2.11) для періоду гострої алкогольної інтоксикації ( $P < 0.05$ ), (рис. 4.6).



**Рис. 4.6.** Лінійна регресія PSD-LFP LS для всього діапазону частот (1-200 Гц). Сині точки – експериментальні дані густини спектральної потужності спонтанної активності, червоні точки – експериментальні дані під час гострої алкогольної інтоксикації, зелена лінія – лінійний фіт даних спонтанної активності, рожева лінія – лінійний фіт даних під час гострої алкогольної інтоксикації,  $n = 8$ . PSD - густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, LS – латеральний септум.

Рівняння лінійної регресії для специфічних спектральних смуг і всього спектру з відповідними коефіцієнтами детермінації наведені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1

**Рівняння лінійної регресії для PSD-LFP сигналу латерального септума**(наведені у вигляді  $\log_{10}(PSD) = intercept(a) + slope(\beta) * (\log(f))/R^2$ )

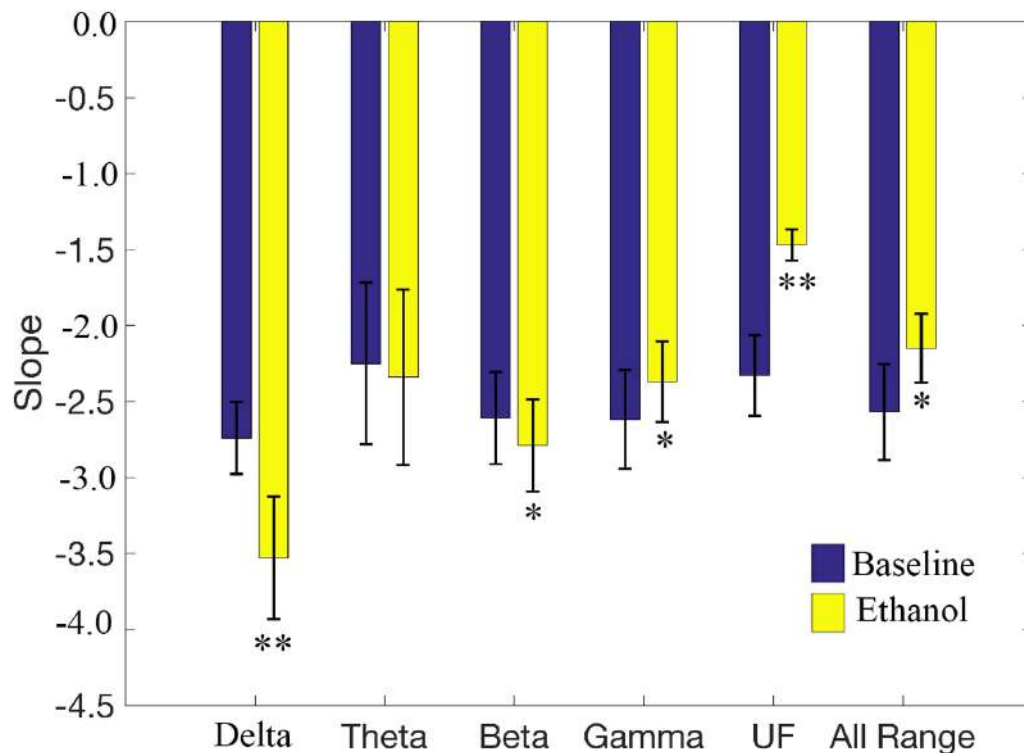
Частотний діапазон	Лінійний фіт для фонові активності/ $R^2$	Лінійний фіт для періоду гострої алкогольної інтоксикації/ $R^2$
Дельта 1 – 4 Hz	4.03 – 2.74*log(f) $R^2 = 0.99$ ;	4.49 – 3.53*log(f) $R^2 = 0.99$
Тета 4 – 12 Hz	3.73 – 2.25*log(f) $R^2 = 0.89$	3.76 – 2.34*log(f) $R^2 = 0.88$
Бета 12 – 30 Hz	4.12 – 2.61*log(f) $R^2 = 0.96$	4.34 – 2.79*log(f) $R^2 = 0.99$
Гамма 30 – 90 Hz	4.10 – 2.62*log(f) $R^2 = 0.99$	3.77 – 2.37*log(f) $R^2 = 0.99$
Ультрашвидкі 90 – 200 Hz	3.49 – 2.33*log(f) $R^2 = 0.98$	2.05 – 1.47*log(f) $R^2 = 0.97$
Весь діапазон 1 – 200 Hz	4.01 – 2.57*log(f) $R^2 = 0.99$	3.45 – 2.15*log(f) $R^2 = 0.98$

Значення регресійних коефіцієнтів під час спонтанної активності  $\beta$  і їх зміна на фоні гострої алкогольної інтоксикації підсумовані в табл. 4.2 та на рис.4.7.

Таблиця 4.2

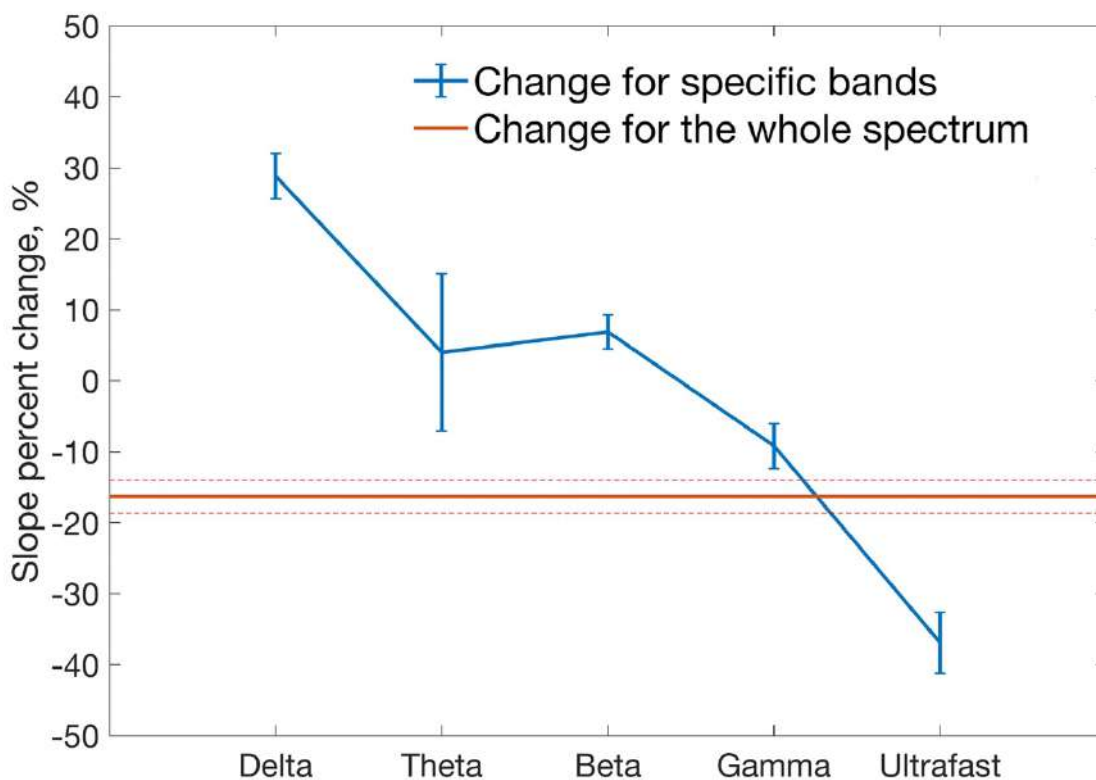
**Зміна коефіцієнту нахилу  $\beta$  лінійної регресії PSD-LFP сигналу в латеральному септумі (*median*  $\pm$  *SD*; *n*=8)**

Частотний діапазон	Коефіцієнту нахилу $\beta$ для PSD спонтанної активності	Коефіцієнту нахилу $\beta$ для PSD під час гострої алкогольної інтоксикації	P-value
Дельта 1 – 4 Hz	-2.74 $\pm$ 0.24	-3.53 $\pm$ 0.40	<b>P &lt; 0.01</b>
Тета 4 – 12 Hz	-2.25 $\pm$ 0.53	-2.34 $\pm$ 0.57	P > 0.05
Бета 12 – 30 Hz	-2.61 $\pm$ 0.30	-2.79 $\pm$ 0.31	<b>P &lt; 0.05</b>
Гамма 30 – 90 Hz	-2.62 $\pm$ 0.32	-2.37 $\pm$ 0.27	<b>P &lt; 0.05</b>
Ультрашвидкі 90 – 200 Hz	-2.33 $\pm$ 0.26	-1.47 $\pm$ 0.10	<b>P &lt; 0.01</b>
Весь діапазон 1 – 200 Hz	-2.57 $\pm$ 0.31	-2.15 $\pm$ 0.23	<b>P &lt; 0.05</b>



**Рис. 4.7.** Зміна динаміки нейронного шуму, оцінена по зміні коефіцієнта лінійної регресії  $\beta$  PSD-LFP сигналу латерального септума: спонтанна активність (сині стовпчики) vs. активність під час гострої алкогольної інтоксикації (жовті стовпчики); \* - P-value<0.05, \*\* - P-value<0.01, UF (epsilon) – ультрашвидкі осциляції, PSD – густина спектральної потужності, LFP – локальний польовий потенціал, (*median*  $\pm$  *SD*; n=8).

На рис. 4.8 представлено, як змінюється динаміка нейронного шуму в зоні LS в процентному співвідношенні для дельта, тета, бета, гама частотних смуг і зони ультрашвидких осциляцій. На графіку також показано рівень зміни нейронного шуму для всього спектру, як базовий рівень, відносно якого побудовані рівні зміни шуму для відповідних частотних зон.



**Рис.4.8.** Динаміка зміни нейронного шуму під час гострої алкогольної інтоксикації відносно рівня спонтанної активності для специфічних частотних смуг, виражена у процентному співвідношенні (зображено синьою суцільною лінією, change for specific bands) та зміна рівня нервового шуму для всього досліджуваного спектру (зображено суцільною червоною лінією, change for the whole spectrum). Стандарти відхилення ( $\pm$ SD) від відповідного значення побудовані у вигляді еррорбарів (сіній колір) для кожної із специфічних частотних смуг та переривчатою лінією для всього спектра (червони колір); по осі абсцис відображені відповідні частотні смуги, по осі ординат – зміна коефіцієнту нахилу модельованих кривих PSD-LFP, виражена у процентному співвідношенні (slope percent change).

Аритмічна активність LS під час ГАІ наростала в порівнянні з фоновою активністю для всього досліджуваного спектру. При цьому для дельта, тета і бета частотних смуг спостерігалось зниження нейронного шуму. У гама частотній



смузі етанол індукував збільшення нейронного шуму. Ця закономірність зберіглася і для області ультрашвидких осциляцій.

**Результати досліджень**, які представлені у даному розділі дисертації, відображені нами в 2 статтях у фахових наукових виданнях України:

- Chaikovska, O. V. (2021). Effect of acute alcohol intoxication on scale-free neural activity in the lateral septum in rats . *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 403-407. <https://doi.org/10.15421/022155>
- Чайковська, О. В. (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104.

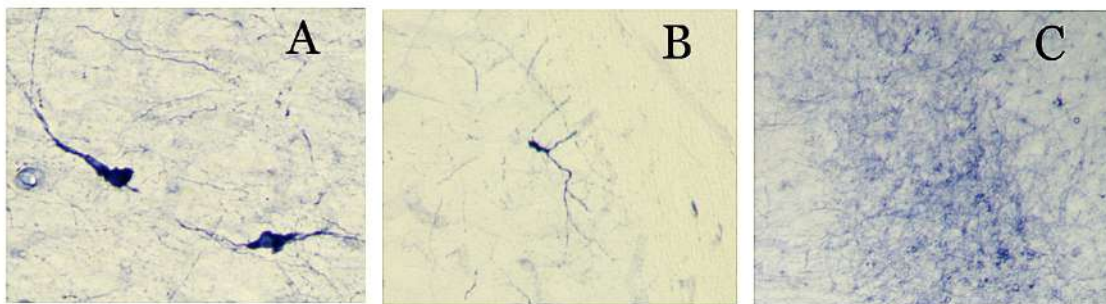
В тезах науково-практичної конференції:

Chaikovska, O., Dovgan, O., Rokunets, I. & Vlasenko, O. (2021). Effect of acute alcohol intoxication on 1/f neural noise in lateral septum. Book Of Abstracts. FENS Regional Meeting, Krakow, Poland, 25 – 27 August, 2021, 101.

## РОЗДІЛ 5

### ГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ ЛАТЕРАЛЬНОГО СЕПТУМА НА ФОНІ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ПРИ БЛОКАДІ

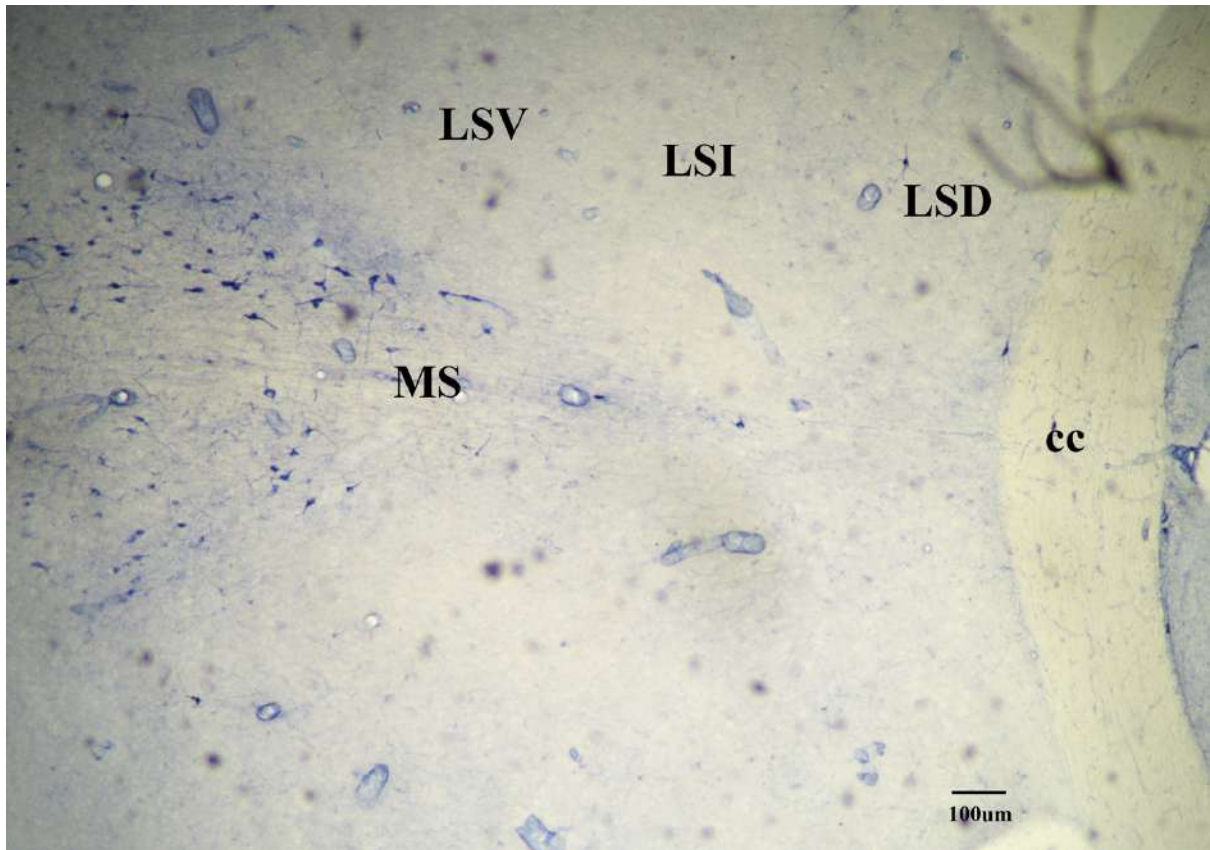
В зоні LS при гістохімічному фарбуванні ідентифікувалися наступні NOS-позитивні структури - два типи нейронів і скупчення нервових волокон (рис.5.1 А-С) в області LS.



**Рис. 5.1.** NOS-позитивні структурні елементи LS: А – крупні нейрони, В – середні/дрібні нейрони, С – зони нервових волокон.

Морфологічно виділялися добре профарбовані нейрони з крупними тілами ~20 мкм і одиничними слаборозгалуженими відростками (рис.5А), середні/дрібні нейрони з тілами ~10-12 мкм і розгалуженими відростками (рис.5В) та зони NOS-позитивних нервових волокон (рис.5С).

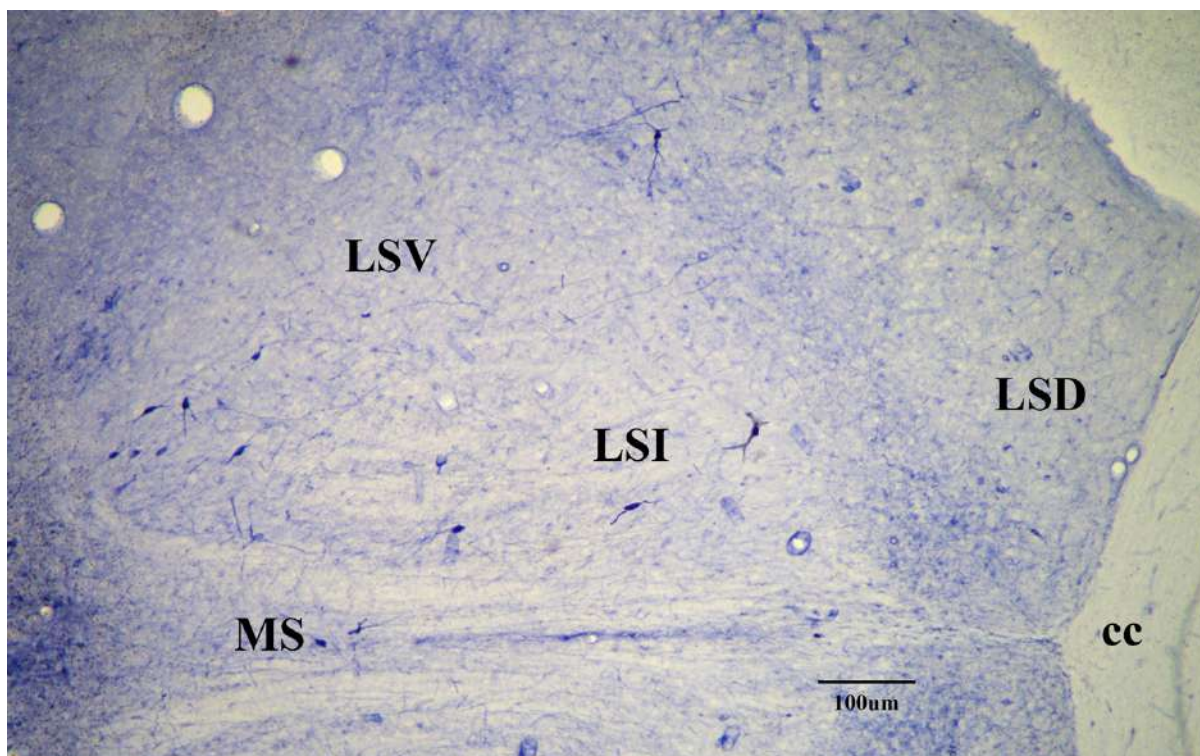
Для контрольної групи густина NOS-позитивних нейронів в LS складала в середньому  $3.05 \pm 0.34$  клітин на зріз для крупних нейронів та  $3.15 \pm 0.31$  клітин на зріз для середніх нейронів (рис.5.2). Зони нервових волокон в серіях зрізів контрольної групи профарбовувалися слабоінтенсивно.



**Рис. 5.2.** Мікрофотографія NOS-позитивних структур контрольної групи тварин (репрезентативний зріз); LSD – дорзальний латеральний септум, LSI – інтермедіальний латеральний септум, LSV – вентральний латеральний септум, MS – медіальний септум, cc – мозолисте тіло.

Введення етанолу не змінило значущо активацію крупних клітин в порівнянні з контролем, яка для групи моделювання гострої інтоксикації склала  $3.34 \pm 0.32$  клітин на зріз. Натомість реєстрували значну активацію NOS в цитоплазмі дрібних і середніх нейронів. Характерною особливістю цих зрізів була вища інтенсивність фонового забарвлення порівняно з контролем. На зрізах мозку групи моделювання ГАІ чітко відмічали нейрони малого/середнього розміру з неінтенсивним забарвленням цитоплазми та відростків. При чому щільність їх у цій групі шурів була досить високою (рис.5.3). Так середня кількість вказаних нейронів на зріз збільшилася в 2.24 рази в порівнянні з контролем ( $p = 0.0122$ ) і склала  $7.06 \pm 0.67$  клітин на зріз. Окрім того на фоні

введення етанолу також спостерігалася активація сплетень NOS-позитивних нервових волокон.

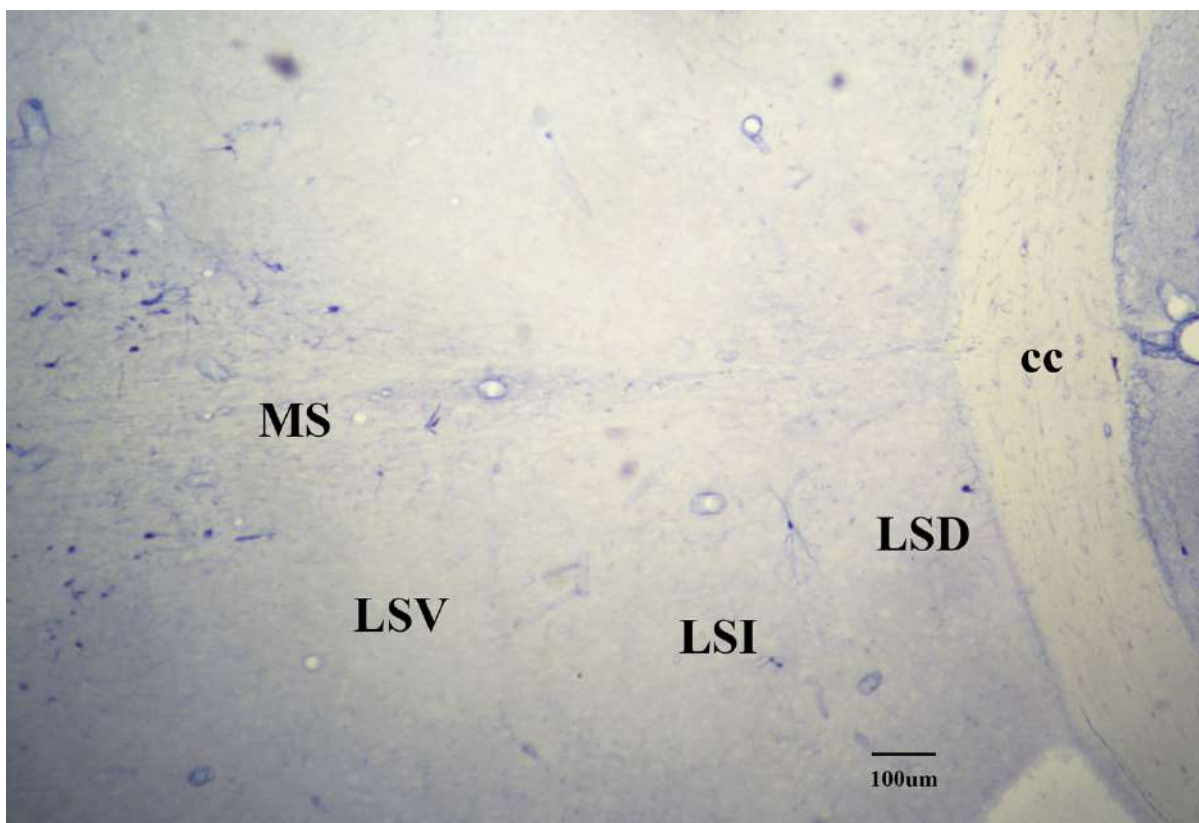


**Рис. 5.3.** Мікрофотографія NOS-позитивних структур: група моделювання гострої алкогольної інтоксикації (репрезентативний зріз); LSD – дорзальний латеральний септум, LSI – інтермедіальний латеральний септум, LSV – вентральний латеральний септум, MS – медіальний септум, cc – мозолисте тіло.

Блокада nNOS селективним інгібітором 7-NI, яка передувала гострій алкогольній інтоксикації не вплинула на кількість NOS-позитивних нейронів обох типів, яка для групи блокади nNOS на фоні гострої алкогольної інтоксикації була співставна з контрольною групою і склала  $3.00 \pm 0.21$  клітин на зріз для крупних нейронів та  $3.08 \pm 0.44$  клітин на зріз для середніх/дрібних нейронів. Супутня блокада NO-синтазної системи призвела до зменшення рівня NOS-позитивних середніх нейронів в 2.29 раз ( $p = 0.0421$ ) в порівнянні з групою моделювання гострої алкогольної інтоксикації без блокади nNOS). Загалом блокада nNOS знизила також кількість та інтенсивність фарбування NOS-

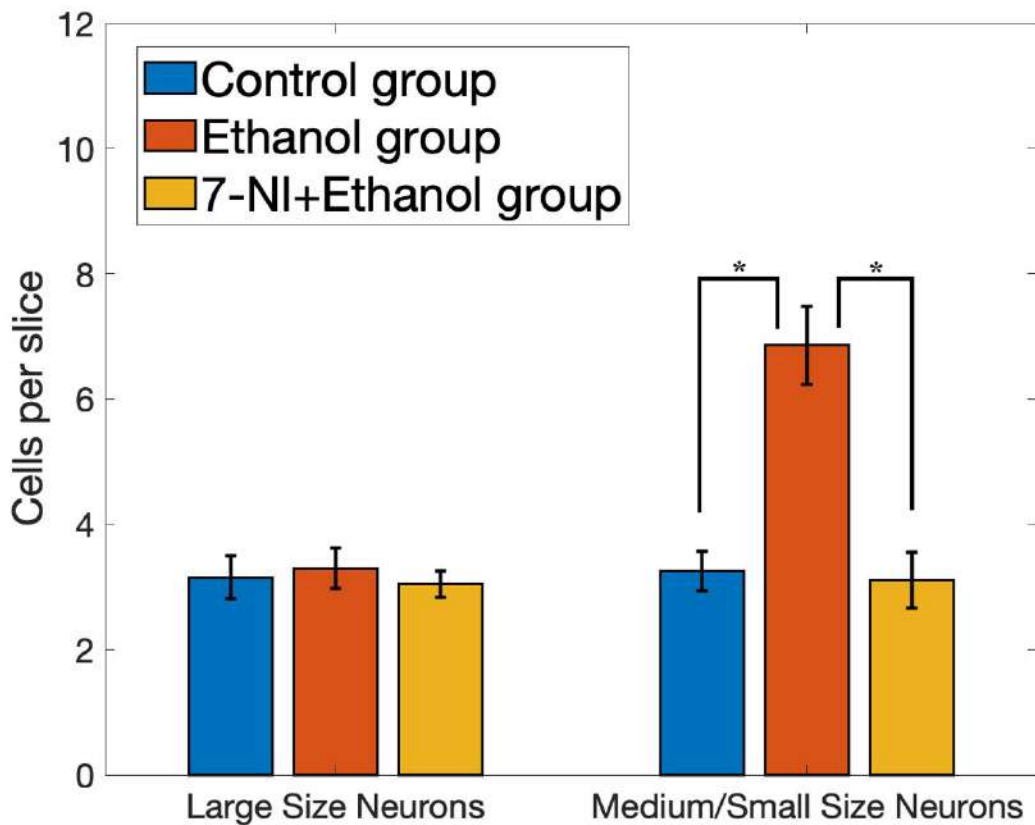


позитивних нервових волокон і фонову інтенсивність до рівнів, що спостерігалися для контрольної групи (рис.5.4).



**Рис. 5.4.** Мікрофотографія NOS-позитивних структур: група моделювання 7-NI + гострої алкогольної інтоксикації (репрезентативний зріз); LSD – дорзальний латеральний септум, LSI – інтермедіальний латеральний септум, LSV – вентральний латеральний септум, MS – медіальний септум, cc – мозолисте тіло.

Статистично значущої різниці в кількості середніх/дрібних NOS-позитивних нейронів між контрольною групою і групою з блокадою 7NI + етанол не спостерігалося. Також не виявлена різниця між кількістю великих NOS-позитивних нейронів між всіма трьома групами (рис.5.5).



**Рис.5.5.** Зміна кількості NOS-позитивних нейронів латерального септума при моделюванні гострої алкогольної інтоксикації та при супутній блокаді NO-синтазної системи. По осі абсцис: Large Size Neurons – крупні нейрони, Medium/Small Size Neurons – середні і дрібні нейрони; по осі ординат – кількість клітин на зріз; синій колір стовпчиків відповідає контрольній групі (Control group), червоний – групі моделювання гострої алкогольної інтоксикації (Ethanol group), жовтий - групі моделювання гострої алкогольної інтоксикації при супутній блокаді NO-синтазної системи 7-нітроїдазолом (7-NI + Ethanol group); представлені дані медіани±стандартне відхилення (medians±SD); статистичне порівняння між групами здійснене за допомогою критерію Краскела-Уолліса (\* - P-value < 0.05).

Описані результати підсумовані в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

**Розподіл NOS-позитивних структур LS для трьох груп досліджуваних тварин (медіана±стандартне відхилення)**

Експериментальні групи/ Досліджувані структури	Контроль n = 4	Гостра інтоксикація етанолом n = 4	7NI + гостра інтоксикація етанолом n = 4
Великі нейрони, клітин/зріз	3.05±0.34	3.34±0.32	3.00±0.21
Середні та малі нейрони, клітин/зріз	3.15±0.31	7.06±0.67	3.08±0.44
Густина нервових волокон	Низька +	Висока +++	Низька +
Інтенсивність фарбування	Низька +	Висока +++	Низька +

Таким чином для контрольної групи, ми виявили NOS-позитивні структури в LS, які склалися з двох субпопуляцій клітин, які відрізнялися за розміром і інтенсивністю забарвлення – великі інтенсивно забарвлені нейрони з крупними тілами і слаборозгалуженими відростками і дрібні/середні клітини, слабо прокрашені з множинними терміналями. Також в досліджуваній зоні виявлялися слабоінтенсивно зафарбовані нервові волокна. ГАІ змінила активність нітратної системи LS, що проявилось збільшенням кількості дрібних/середніх нейронів в 2.24 рази в порівнянні з контрольною групою і збільшенням густини і інтенсивності нервових волокон. Блокада nNOS, яка передувала ГАІ усунула активуючий ефект етанолу на середні/дрібні нейрони LS

і їх кількість в межах похибки була співставна з кількістю середніх/дрібних нейронів для контрольної групи.

**Результати досліджень**, які представлені у даному розділі дисертації, відображені нами в 2 статтях у фахових наукових виданнях України:

- Chaikowska, O. V., Dovhan, O. V., Rokunets, I. L., Nechiporuk, V. M., & Vlasenko, O. V. (2021). Histochemical characteristics of nitreergic neuronal system during acute alcohol intoxication and nNOS blockage in the rat lateral septum. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 25(3), 369-375.
- Чайковська, О. В. (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104.



## АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Алкоголь є найчастіше вживаною психотропною речовиною у світі, яка здатна викликати залежність, значно знижуючи якість життя пацієнтів та створюючи додаткове навантаження на економіку. Це обумовлює інтенсивні дослідження механізмів впливу алкоголю на ЦНС та формування залежності, пошуку біомаркерів та дієвої терапії. Ці задачі, на сьогодні, в повній мірі не вирішені, хоча накопичений гігантський масив даних, на основі яких виділені основні нейромережі, які опосередковують процес формування адаптивних змін.

Найбільш повні моделі, які описують реакції ЦНС, починаючи від гострої інтоксикації, перехід до хронічного вживання і залежності, абстиненцію та рецидив описані в [57]. Домінуючі теорії представлені – теорією дефіциту винагороди, спонукаючої значущості, дефіциту гальмівного контролю. Не дивлячись на те, що ключовими факторами і тригерами вони визначають дещо різні аспекти, на рівні нейронних мереж і нейромедіаторних систем теорії перекривають, в цілому, спільні структури і системи.

Багато з цих моделей сходяться в тому, що перехід від вживання до залежності поведінково описується переходом від цілеспрямованої поведінки до формування патологічної звички, яка активується асоційованими з алкоголем, стимулами, контекстом або стресом. На рівні нейромереж це означає переключення усвідомленої поведінки, контрольованої префронтальною корою до звички – нейронних контурів, опосередкованих лімбічною системою через систему базальних гангліїв. Тому важливо знати, як саме змінюється активність причетних структур лімбічної системи, починаючи від гострого впливу алкоголю аж до реактивації патологічної поведінки при рецидивах.

Зона LS залучена у цілий ряд складних когнітивних процесів, емоційних реакцій, виступає інтегратором контекстної інформації та має зв'язки з усіма ключовими зонами, які змінюють активність при вживанні психотропних

речовин і піддаються нейропластичним змінам в процесі формуванні залежності.

Метою нашого дослідження було дослідити електричні і гістохімічні характеристики LS, які б дозволили інкорпорувати його у мережу, яка задіяна на стадії ГАІ.

Для вирішення поставлених задач, і зокрема аналізу електричної активності LS, було здійснено реєстрацію LFP для фонові активності і активності, індукованої ГАІ в області LS в частотному діапазоні 1-200 Гц.

Реєстрація електромагнітних процесів, що супроводжують мозкову активність – є провідним методом при дослідженнях мозку. Одним із досліджуваних аспектів такої активності є осциляції, які відображають корельовану активність нейронних груп, мікромереж, великих мереж і цілих зон мозку. Самоорганізація цих нейромереж різних масштабів, проявляється, як осциляторна активність і є енергетично ефективним механізмом, який підтримує розподілену активність нейронних груп [160]. Вважається, що вони визначають часову і просторову динаміку мозкової активності [157]. Порушення ж осциляторної активності супроводжує психічні і неврологічні розлади, і їх ідентифікація може слугувати електрофізіологічними маркерами і корелятами для діагностики, відстеження перебігу і лікування даних хвороб [158, 159].

Мозкові осциляції давно досліджують і пов'язують з багатьма когнітивними процесами, які вважаються прерогативою кори головного мозку. Однак осциляторна активність спостерігається і на еволюційно нижчих щаблях мозку, включаючи лімбічні структури. Нещодавнє дослідження [160] виявило кореляцію швидких хвиль гіпокампа і добового рівня інтерстиціальної глюкози, що говорить про участь осциляцій у модуляції одного з важливих метаболічних шляхів поза межами мозку. Мозкові ритми знайдені у багатьох видів тварин, і схоже, є еволюційно перевіраним закріпленим механізмом, яким ЦНС реалізує відповідні функції. Тобто мозкові осциляції – один із важливих механізмів комунікації, кодування і узгодження нейронної активності поряд з класичним «кабельним» механізмом передачі потенціалів дії, який на відміну від останнього

обходить обмеження у наявності фізичного контакту між усіма елементами мережі і функціонує енергоефективно у широкому діапазоні масштабів [98].

Для оцінки особливостей активності LS з отриманих часових серій було обраховано їх спектри. Аналіз септограм виявив зміну активності по всім частотним смугам для LFP LS, що доводить його участь не лише на пізніх стадіях залежності (реактивація стимул/контекст-асоційованої поведінки), але й на самих ранніх етапах ГАІ. Збільшення активності, оцінене як сумарне збільшення чи зниження потужності для окремих частотних смуг, було зафіксовано в області дельта, тета, бета-2, гамма і ультрашвидких осциляцій, зниження сумарної активності – в бета-1 частотній області (для всіх зон, окрім тета частотної зони, зміни були статистично значущими,  $P < 0.05$ ).

Найбільш суттєві зміни спектральної потужності у кількісному відношенні щодо фонові активності спостерігалися в септограмах для дельта, бета частотної смуги та зони ультрашвидких осциляцій.

Загалом, як для фонового спектру LFP LS, так і для спектру під час ГАІ найбільш виразні піки, що відповідають осциляціям у зазначених зонах визначалися в тета і бета частотних зонах. Вплив етанолу поряд з відносною зміною потужності сигналу по зазначених частотах, призвів також і до зниження амплітуди піку бета-1 осциляцій зі зміщенням в сторону більш низьких частот з  $14.77 \pm 0.22$  Гц на  $13.70 \pm 0.12$  Гц,  $P < 0.05$ . Хоча чіткі піки візуально спостерігались в спектрах для тета і бета частотних зон, наявність осциляторної активності в LS реєструвалася і у інших частотних смугах, що підтверджувалося періодичними частотними сплесками в означених зонах на отриманих спектрограмах при частотно-часовому аналізі LFP LS на протязі всього запису під час фонові активності і для ГАІ.

Дельта область – повільні ритми з частотою 0.5-4 Гц пов'язують з регуляцією “up and down” (UAD) станів мозкової активності. UAD паттерни спостерігалися найбільш яскраво і були виділені та описані в ЕЕГ записах під час сну і анестезії. Їх виникнення асоціюють з двома фундаментальними станами

мозку і відповідними станами мембранного потенціалу, де “up” – це стан, при якому система готова приймати інформацію і поріг мембранного потенціалу наближається до порогу генерації потенціалу дії і “down ” – стан, коли мембранний потенціал, навпаки, віддаляється від порогу [177]. Інша функція дельта осциляцій – узгодження активності між віддаленими зонами мозку, як це описується для всієї низькочастотної області осциляцій. Хоча найбільш виразна дельта активність спостерігається під час сну і анестезії, подібна активність виділена і в підкіркових структурах – гіпокампі і енторинальній корі у щурів [178], також вони зафіксовані і при складних когнітивних процесах у людей [179].

Щодо впливу ГАІ на дельта активність, дві дослідницькі групи [162, 163] описують збільшення потужності для дельта зони у відповідь на високі дози алкоголю для ЕЕГ у людей, тоді як відносно зниження потужності спостерігалось у хворих на хронічний алкоголізм під час проходження когнітивних тестів [164]. В нашому дослідженні продемонстровано, що в області дельта в LS у щурів відбувається значне збільшення потужності (+90.75%,  $P < 0.05$ ), як реакція на гостре введення етанолу, що відповідає тенденції для існуючих ЕЕГ даних для ГАІ.

Цікаво, що при здійсненні когнітивних завдань у здорових індивідів також спостерігається підвищення потужності осциляторної активності у дельта зоні, яке пов'язують з кортикальною деафферентацією або інгібуванням, яке супроводжує переключення активності кори при концентрації уваги і перенаправленні обчислювального ресурсу від сприйняття зовнішніх стимулів на внутрішній функціонал для вирішення завдання. Це пояснюється зсувом балансу збудження в сторону гальмування у великих масштабах, оскільки дельта ритми – це повільні ритми які узгоджують дистантні зони. Схожий ефект може спостерігатися і для гострої дії етанолу, оскільки першою реакцією ЦНС на ГАІ є також порушення балансу збудження-гальмування, при якому спочатку домінує гальмування.

Вважається, що високочастотна осциляторна активність відображає комунікацію на рівні локальних нейромереж (бета, гамма, ультрашвидкі осциляції), тоді як вищеописані низькочастотні ритми – окремих відносно великих зон [161]. Зміни, які ми спостерігали для бета і ультрашвидких осциляцій, характерні для мозкової активності в масштабах саме локальних ансамблів [96]. В LFP LS була зафіксована інтенсифікація для всієї гамма частотної зони та області ультрашвидких осциляцій, тоді як для бета частотної смуги фіксувався різнонаправлений ефект. Потужність бета-1 осциляцій зменшилась (-50.97%,  $P < 0.05$ ), а бета-2 збільшилась (+72.02%,  $P < 0.05$ ) під дією етанолу.

Функціональне значення бета ритмів достеменно не встановлено, синхронізація в цій області спостерігається при багатьох когнітивних процесах та організації і реалізації моторних програм [198]. Engel і Fries висунули гіпотезу, що бета осциляції відображають своєрідний «статус-кво» або еквілібріум нейронної активності [197]. Також зібрані дані, що активність в бета частотній області модулюється переважно ГАМК-системою і дофаміною нейропередачею [170, 194]. Синхронізація в області бета частот є також характерною, хоч і не унікальною, особливістю кортико-базальні ганглії-кортикальної системи. Порушення бета синхронізації спостерігають при ураженні дофамінової системи, наприклад, при хворобі Паркінсона [196]. Тут припускають різні вклади у два діапазона бета частот, де низькочастотні бета-1 пов'язують переважно з нейронними контурами глибоких структур, а високачастотні бета-2 з осциляторними, пов'язаними з корою [195].

Перша глобальна відповідь ЦНС на ГАІ, як вже згадано вище, це генералізоване посилення гальмівної активності і пригнічення збудження або так зване зміщення балансу збудження-гальмування в сторону гальмування. Цей процес опосередковується переважно ГАМК нейромедіаторною системою [168, 169]. Наші дослідження електричної активності, індукованої ГАІ для ділянки LS можуть відображати цей ефект в досліджуваній зоні, оскільки ми спостерігали

суттєве збільшення спектральної потужності для бета-2 частотної смуги. Рядом досліджень, було встановлено, що активність саме цієї частотної зони модулюється за посередництвом ГАМК<sub>A</sub> рецепторів, і збільшення активності можна розглядати, як посилення ГАМК-сигналінга у відповідь на етанол [170, 171].

Гамма осциляції, швидкі осциляції в діапазоні 30-90 Гц, які в багатьох дослідженнях розділяють на повільні гамма (low gamma) і швидкі гамма (high gamma), є одним з важливих механізмів обробки інформації сенсорними зонами, наприклад зоровою корою [174], також припускається, що вони грають визначну роль у процесах кодування інформації нервовою системою [98, 172]. Вказується на їх участь у механізмах формування пам'яті і навчанні для глибоких підкіркових структур, і в більш широкому контексті, як додатковий механізм передачі релевантної інформації між різними системами мозку [173].

Щодо змін в високочастотній частині гама спектрів, які стосуються мозкової активності невеликих ансамблів нейронів, в ЕЕГ дослідженнях на людях і в інтрацеребральних записах на тваринних моделях спостерігалось збільшення спектральної потужності в області, як низькочастотних, так і високочастотних гамма осциляцій для ЕЕГ та LFP гіпокампальної області, а також в *Nacc* на фоні введення етанолу [165, 166, 167]. Наші експерименти виявили швидку інтенсифікацію активності для гамма (+13.58%,  $P < 0.05$  для низькочастотних гама та + 27.51%,  $P < 0.05$  для високочастотних гама). Як видно, зі збільшенням частоти осциляцій збільшується і приріст потужності, викликаний ГАІ.

Щодо змін в області ультрашвидких осциляцій (нижню межу для яких різні джерела встановлюють на рівні 70-90 Гц) при впливі етанолу літературні дані дуже обмежені. Це пов'язано і з тим, що техніки ЕЕГ довгий час обмежували область сигналу, придатного для аналізу 70-герцовим лімітом, а більшість електрофізіологічних досліджень щодо впливу етанолу на мозок виконано для ЕЕГ сигналів. На разі роль ультрашвидких осциляцій вивчається для

когнітивних процесів, процесів формування пам'яті та їх зміни при різних патологіях, таких як епілепсія, шизофренія, хвороба Паркінсона, тощо [180, 181, 182, 183].

З точки зору масштабу, який вносить вклад в сигнал LFP в області високошвидкісних гамма та ультрашвидких осциляцій вважається, що це досить компактні нейронні групи і навіть спайкова активність окремих клітин. З іншої сторони сам механізм цих осциляцій досі дискутабельний і чітко не визначений. Є питання, щодо встановлення і валідації єдиної моделі цих осциляцій, оскільки окремі нейрони мають тенденцію до стохастичної серії розрядів, тоді як глибокі структури типу гіпокампу в області цих частот виявляють досить стабільну осциляторну активність [175]. Одним із основних електромагнітних процесів, що вносять вклад в сигнал LFP, вважається, синаптична активність. І якщо для більш повільних частотних зон частота процесів на синапсах співставна з частотою осциляцій, то для області ультрашвидких осциляцій класична синаптична передача є занадто повільною. Для цієї зони, ймовірним припущенням є те, що тут основними гравцями можуть виступати не процеси передачі по хімічних, а електричних синапсах типу gap junction [176].

Для LFP LS виявлена суттєва осциляторна активність в області ультрашвидких частот. ГАІ явно змінює активність ультрашвидких осциляцій в сторону збільшення потужності (+51.49%,  $P < 0.05$ ), така сама тенденція спостерігалася і для гама ритмів. І якщо гіпотеза про участь електричних синапсів є вірною, враховуючи, просторовий масштаб, характерний для цієї частини спектру, це додатково підтверджує активну участь локальних ансамблів нейронів LS у відповідь на гостре введення етанолу.

Тета ритм – повільний ритм в частотному діапазоні 4 - 8 Гц при канонічному розподілі на частоти, але у гризунів альфа-ритм який типово відповідає смузі 8-12 Гц заміняється більш широким ренжем тета, і ділиться на тета-2 (4-8 Гц) і тета-1 (8-12 Гц). Такий поділ також є логічним для нашого дослідження, ще й в розрізі того, що експеримент проводився на анестезованих

тваринах.

Тета ритм вважається характерним “відбитком” багатьох структур лімбічної системи і одним з базових ритмів гіпокампа, який пов’язує з процесами консолідації пам’яті [184], сенсорномоторної інтеграції [186], з поведінковими проявами агресії і афекту [187], а також процесом навігації у просторі [185], доведеним в відомій роботі О’Кіфі, де він показав кореляцію між розрядами нейронів «місця» і фазою тета ритмів гіпокампа. Відповідно фармакологічним і поведінковим особливостям тета гіпокампу і суміжних з ним структур поділяють на два підтипи – тета-2 (4-8 Гц) – чутливий до атропіну і нечутливий до більшості анестетиків, характерний для автоматичних процесів і рухів та тета-1 (8-12 Гц) – нечутливий до атропіну і чутливий до уретанової анестезії, тісно пов’язаний з руховою активністю і сенсорномоторною інтеграцією [190].

Зона LS дуже тісно пов’язана з гіпокампом провідними шляхами, як аферентними, так і еферентними. Більш того медіальний септум вважається пейсмейкерною зоною для тета ритмів гіпокампа [188, 189]. У дослідженні [191] було виявлено дозозалежне зменшення спектральної потужності тета-2 ритму для низьких доз алкоголю при ГАІ. У дослідженні [192] вивчався вплив пренатальної тривалої інтоксикації на тета-ритм у потомства у щурів. Було виявлено статистично значущу різницю для групи з дуже високою дозою етанолу (5 г/кг) – активізацію в області тета-2 і зниження потужності для частотної області тета-1. Щодо тета ритму для ЕЕГ у людей показано, що ГАІ призводить переважно до збільшення активності в тета діапазоні, а от дані щодо зони 8-12 Гц, яка для ЕЕГ у людей класифікується як альфа-ритм, різнонаправлені – фіксувалося як збільшення, так і зниження потужності осциляцій в залежності від області мозку з якої велися записи [193, 123]. Аналіз ЕЕГ хворих на AUD з вже сформованою залежністю виявив підвищення тета активності (що відповідає тета-2 у щурів), а для зони альфа (тета-1) дані так само різняться, як і у випадку ГАІ [123].



З огляду на вищезгадані дані досліджень інших авторів, отримані для глибоких структур лімбічної системи, для LS варто було б очікувати зміни потужності в тета частотній області в сторону її зменшення, особливо для тета-2 ритму. Однак, в нашому дослідженні для септограм виявлено, що хоча спектральні піки в тета зоні досить чіткі і наявні як в фоновому періоді, так і при ГАІ, спостерігалось лише помірне збільшення потужності осциляцій нижче статистично значимого порогу (+10.45%,  $P > 0.05$  для тета-1 і +7.31%,  $P > 0.05$  для тета-2 частотних смуг відповідно).

Поряд з ритмічною активністю, яку ми спостерігали для LFP LS значну частину спектру складає нейронний шум. Інші назви – аритмічна активність, відома також як фрактальна або “рожевий шум” (arrhythmic/fractal activity, “pink noise”), яка також іноді визначається, як  $1/f$ , відповідно до степеневому закону частотного розподілу [199, 200, 201]. Тому іншою задачею цього дослідження було оцінити динаміку нейронного шуму LS при ГАІ.

Давно відомо, що у відповідях популяцій нейронів, які кодують і передають інформацію достатньо велика варіабельність. Перші гіпотези визначали цю стохастичність однозначно, як “шум” і певний рівень невизначеності, яка погіршує передачу “корисної” інформації. Були визначені можливі “генератори” шуму в ЦНС, починаючи з сенсорного шуму і шуму рецепторів, який обмежує спектр інформації, яку може сприймати ЦНС, шум індукований струмами на іонних каналах і який виникає при генерації потенціалів дії, синаптичні шуми, обумовлені біохімічними процесами, які лежать в основі синаптичної передачі, коливання мембранного потенціалу і так званий “моторний” шум, який виникає при електромеханічному спряженні [203]. Пізніше McDonell і Ward описали і запропонували модель, як певний фоновий рівень шуму може значно покращувати передачу і обробку інформації в нелінійних системах, якою і є мозок – так звана теорія стохастичного резонансу [204]. Утримуючись в межах певного порогу нейронний шум полегшує перцепцію стимулів, тоді як у відсутності шуму слабкий сигнал не може

подолати рівень необхідного порогу сприйняття [216, 105]. Нейронний шум доповнює знання про динаміку мозкових процесів на додачу до осциляторної активності.

VoYTEK з колегами запропонували метод оцінки нейронного шуму [108]. Для цього спектральна густина потужності відповідної частини спектра моделюється лінійною моделлю і по параметру, який відповідає нахилу отриманого лінійного фіту оцінюється поведінка аритмічної активності. Сплощення нахилу апроксимованої кривої відповідає наростанню нейронного шуму, збільшення нахилу – зменшенню рівня нейронного шуму.

Наше дослідження виявило, що в області LS і під час ГАІ для усього досліджуваного діапазону частот спостерігалось наростання нейронного шуму і нахил модельованої кривої зменшився (-16.3%) відносно спонтанної активності, що відповідало зміні коефіцієнту  $\beta$  з  $-2.57 \pm 0.30$ , CI95(-2.58 -2.56) при фоновій активності до  $-2.15 \pm 0.23$ , CI95 (-2.14 -2.11) для періоду ГАІ ( $P < 0.05$ ).

Якщо розглядати поведінку нейронного шуму щодо специфічних частотних смуг, то вимальовується тенденція до зменшення нейронного шуму в області, яка відповідає низьким частотам і збільшення для високочастотних областей. Для специфічних частотних смуг динаміка була наступною. В дельта частотній смузі фіксувалося збільшення нахилу  $\beta$  з  $-2.74 \pm 0.24$ , CI95(-2.86 -2.62) для фоновій активності до  $-3.53 \pm 0.40$ , CI(-3.60 -3.46) для ГАІ ( $P < 0.01$ ), що у процентному співвідношенні склало +28.8%. Для області тета ми спостерігали збільшення нахилу апроксимованої кривої (+4.0%) відносно фонового рівня з відповідними значеннями коефіцієнтів  $-2.25 \pm 0.53$ , CI95(-2.29 -2.21) для спонтанної активності до  $-2.34 \pm 0.57$ , CI95(-2.45 -2.23) для періоду гострої алкогольної інтоксикації ( $P > 0.05$ ). Динаміка зменшення нейронного шуму зберіглася і для бета частотної області (+6.9%) при відповідних змінах величини коефіцієнту  $\beta$  з  $-2.61 \pm 0.30$ , CI95(-2.64 -2.58) для фоновій активності до  $-2.79 \pm 0.31$ , CI95(-2.83 -2.75) для активності під дією етанолу, ( $P < 0.05$ ). В гамма частотній смузі поведінка аритмічної активності змінилася на протилежну і

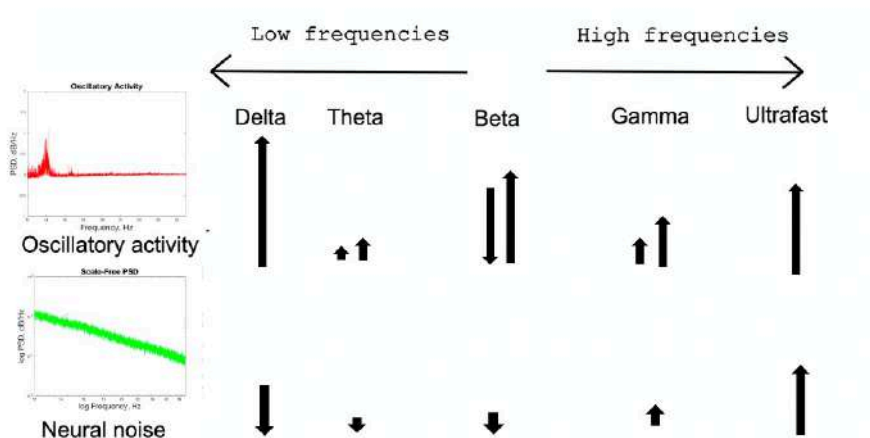
нахил регресійної лінії зменшився (-9.2%), відповідні коефіцієнти моделі змінилися з  $-2.61 \pm 0.32$ , CI95 (-2.65 -2.59) для фонового спектру і  $-2.37 \pm 0.27$ , CI95 (-2.39 -2.34) після ін'єкції етанолу ( $P < 0.05$ ). Для області ультрашвидких осциляцій зміна коефіцієнтів була наступною –  $-2.33 \pm 0.26$ , CI95(-2.36 -2.29) для фонові активності до  $-1.47 \pm 0.10$ , CI95(-1.49 -1.44) після введення етанолу, ( $P < 0.01$ ), що відповідало подальшому сплюсненню нахилу регресійної лінії (- 36.9%).

Дослідження нейронного шуму в сигналах мозкової активності, який співвідносять з рівнем популяційної активності, почалося відносно недавно, тому не так багато робіт висвітлюють цю проблему. Домінуючі евристичні теорії, які пояснюють утилітарність нейронного шуму, можна описати наступним чином. З однієї сторони, нейронний шум певного рівня необхідний в складних нелінійних системах типу мозку для кращої детекції і дискримінації слабких сигналів, переключення між стаціонарними станами популяційної активності і генералізації, яка необхідна для адекватного співвідношення стимулів при утворенні асоціативних зв'язків і навчанні [213]. Тоді як вихід нейронного шуму за межі певного рівня буде погіршувати трансмісію. Тобто як і основна маса процесів в організмі, рівень нейронного шуму має підтримуватися в межах деякого оптимального діапазону.

Наше дослідження показало, що при ГАІ нейронний шум суттєво зростає в межах широкого частотного інтервалу в зоні LS, характерних для активності ансамблів нейронів, і тим більше чим менше масштаб мереж. При цьому, в частотах, у яких іде узгодження глобальних повільних процесів аритмічна активність, навпаки, знижується. Перше пояснення цього ефекту впливає із факту, що етанол порушує роботу окремого нейрона збільшуючи варіабельність його відповіді. З точки зору теорії хаоса, це трактується, як зменшення впорядкованості сигналу і збільшення ентропії. Подібний ефект був описаний в [217, 218], де спостерігалось збільшення примірної ентропії (sample entropy) для ЕЕГ людей з хронічною формою AUDs. Очевидно, що найбільші зміни слід

очікувати в масштабі, де зміна варіабельності вносить найбільший вклад в сумарний сигнал, що і підтверджується найбільшою величиною зміни нейронного шуму в області ультрашвидких осциляцій, яка і відображає цей «чутливий» масштаб. При цьому ГАІ також викликає генералізований зсув балансу збудження-гальмування в сторону гальмування через активацію ГАМК трансмісії. Що може пояснювати зниження нейронного шуму для області частот, які модулюються ГАМК-рецепторною передачею, а це переважно область бета-частот. Для низьких частот, ймовірно, що вклад, обумовлений збільшенням варіабельності розрядів окремих нейронів чи локальних нейромереж усереднюється внаслідок повільної часової динаміки, що разом з ефектом генералізованого етанол-індукованого гальмування може пояснити суттєве зниження нейронного шуму для низькочастотних зон.

На рис.6.2 підсумовано у вигляді схеми зміни обох типів активності – ритмічної і аритмічної, які ми спостерігали для LS під час ГАІ.



**Рис. 6.2.** Зміна осциляторної (oscillatory activity) і аритмічної активності (neural noise) латерального септума на фоні гострої алкогольної інтоксикації. Стрілками “верх” показано збільшення потужності для осциляцій і наростання нейронного шуму (зменшення коефіцієнтів нахилу  $\beta$  регресійних моделей);

стрілками “низ” – зменшення потужності для осциляцій і зменшення рівня нейронного шуму (збільшення коефіцієнтів нахилу  $\beta$  регресійних моделей) відповідно.

Видно, що найбільш суттєві зміни в обох типах активності прослідковуються для дельта частотної зони і області ультрашвидких осциляцій. Ефект ГАІ на електричну активність в LS був однонаправлений для області дельта і ультрашвидких осциляцій, де і ритмічна активність і нейронний шум збільшуються під дією етанолу і різнонаправлений для областей дельта і тета, де поряд зі збільшенням осциляторної активності спостерігалось зниження нейронного шуму, що як описано вище може пояснюватись часовим згладженням варіабельності у цих частотних зонах. Для бета частотної області, накопичено найбільше доказів участі ГАМК<sub>A</sub> трансмісії і активації як тонічного, так і фазичного гальмування [219, 220, 221] у модуляції електричної активності, коли етанол виступає в ролі ліганда ГАМК<sub>A</sub> рецепторів, зв'язаних з іонними каналами та активує струм іонів хлору, який призводить до гіперполяризації нейронних мембран. Сумарний ефект, який ми спостерігали для бета частотної області – це збільшення ритмічної активності при зниженому рівні нейронного шуму. Схожі результати отримали Stock з колегами при дослідженні впливу великих доз алкоголю на ЕЕГ сигнал здорових добровольців [110]. При цьому динаміка нейронного шуму для всього спектру виявляла зниження аритмічної активності, що співпадає з отриманими нами даними для LFP LS. Lucas з колегами при дослідженні ефекту впливу етанолу і канабісу на активність нейронів сітківки виявили збільшення рівня фонового шуму, при тому що їх методика оцінки з урахуванням типу сигналу, електроретинограми, різнилася від такої в нашому дослідженні, тенденція була схожа то тієї, яку ми спостерігали для аритмічної активності LS всього спектру [214].

Останнім часом активно досліджується, як нейронний шум змінюється при інших патологіях, в які втягнута ЦНС. Було виявлено зниження перфомансу

когнітивних завдань і збільшення нейронного шуму при шизофренії, і на думку авторів коефіцієнт нахилу  $\beta$  може бути електрофізіологічним біомаркером шизофренії, а дезорганізована нейронна комунікація, яка характерна для цієї хвороби – може бути пояснена у рамках зміни аритмічної активності [222]. Підвищена аритмічна активність також асоціюється з віковими змінами [108] та супроводжує ураження когнітивної сфери у пацієнтів з фіброміалгією [105]. Зниження нейронного шуму спостерігалось у дітей з хворобами аутистичного спектру [213], синдромом дефіциту уваги з гіперактивністю [223] та при виконанні когнітивних завдань пацієнтами з шизофренією, які виявляли зниження нейронного шуму в порівнянні з контрольними групами [107].

На даний момент відомо, що в аритмічну активність вносять вклад зміна балансу збудження-гальмування, особливо ГАМК vs AMPA рецепторної трансмісії [225], встановлена участь адренергічної системи [224] для нейронного шуму в області тета частот та модуляторна роль дофамінергічної системи [109]. Етанол впливає на всі ці процеси, і гіпотеза, що нейронний шум LS буде змінюватися і при ГАІ була підтверджена в нашому дослідженні. Ще мають бути встановлені чіткі механізми, які стоять за його генерацією і динамікою описаних змін, оскільки це розуміння поряд з встановленням механізмів AUD є необхідним для розуміння фундаментальної задачі нейронауки, як працює мозок, одним із аспектів якого є нейронний шум.

Наступною задачею нашого дослідження було дослідити фонову активність нітратергічної системи LS, як вона зміниться при ГАІ та проаналізувати її відгук на блокування специфічної nNOS селективним інгібітором 7-нітроіндазолом.

Сигнальні та нейромодуляторні шляхи, опосередковані оксидом азоту грають суттєву роль у реакціях, які реалізуються за участі лімбічної системи та системи винагороди, а підвищена експресія nNOS [226, 227] у відповідних ділянках мозку під час реалізації цих реакцій дає підстави розглядати її, як таргет для корекції і терапії ряду залежностей (алкогольної, наркотичних), а також

депресій, нейродегенеративних захворювань, хронічного болю та груп хвороб, в патогенезі яких задіяний механізм ексайтотоксичності [228].

Ми виявили, що в LS визначаються NOS-позитивні клітини і сплетення нервових волокон. Клітини представлені двома субпопуляціями нейронів – інтенсивно зафарбованих з крупними тілами і відростками та слабо забарвлених дрібних/середніх нейронів. Густина великих нейронів становила  $3.05 \pm 0.34$  клітин на зріз, середніх/дрібних -  $3.15 \pm 0.31$  клітин на зріз в оцінюваній ділянці. В роботі [229] була оцінена кількість нейронів для щурів лінії Sprague-Dawley, для зрізів мозку яких, в LS був зафіксований високий рівень NO-синтазних нейронів, що відповідно градації авторів відповідало 3 і більше клітинам на оцінювану ділянку мозку. В цілому, це співпадає з результатами, які ми спостерігали для щурів лінії Wistar для контрольної групи. Щільність NOS-позитивних волокон для щурів лінії Sprague-Dawley була оцінена як висока, а для щурів контрольної групи лінії Wistar у нашому дослідженні, як низька, що може бути пов'язано, як з різною методикою ідентифікації NOS-позитивних структур – моноклональними антитілами в дослідженні Chong з колегами і НАДФН-діафори у нашій роботі, так і видовою різницею досліджуваних тварин. Наприклад, наявність NOS-позитивних нейронів у LS мозку людини і приматів до недавнього часу дискутувалась, аж доки в дослідженні [230] не була доведена їх наявність, а також залежність ідентифікації від методу гістологічного приготування зрізів. В цілому наші результати по оцінці кількості нейронів LS співпадають з такими, що виявлені в лінії щурів Sprague-Dawley.

Активацію NO-залежного молекулярного шляху виявлено на всіх стадіях формування циклу алкогольної залежності – стадії ГАІ, стадії відміни (негативного афекту) і стадії пошуку (рецидиву) [226]. Було визначено, що вже для ранньої ГАІ мало місце підвищення експресії nNOS *in vitro* для культури кортикальних нейронів в порівнянні з контрольними групами клітин [226]. Також було виявлено збільшення синтезу NO на стадії абстиненції в ділянках

мозку, що контролюють тривожність, і в таких, що задіяні в реалізації стрес-реакцій та їх емоційних, вегетативних і моторних компонентах [241]. Встановлено, що 7-NI у дозах 15 мг/кг і 25 мг/кг, який вводився піддослідним тваринам протягом тижня знижував інтенсивність абстинентного синдрому, а також мав нейропротективну дію щодо оксидативного стресу [32]. Натомість, стимуляція nNOS агоністом L-аргініном призводила до рецидиву вживання у щурів [227], що вказує на участь NO-синтазної системи у всіх стадіях циклу залежності для тваринних моделей.

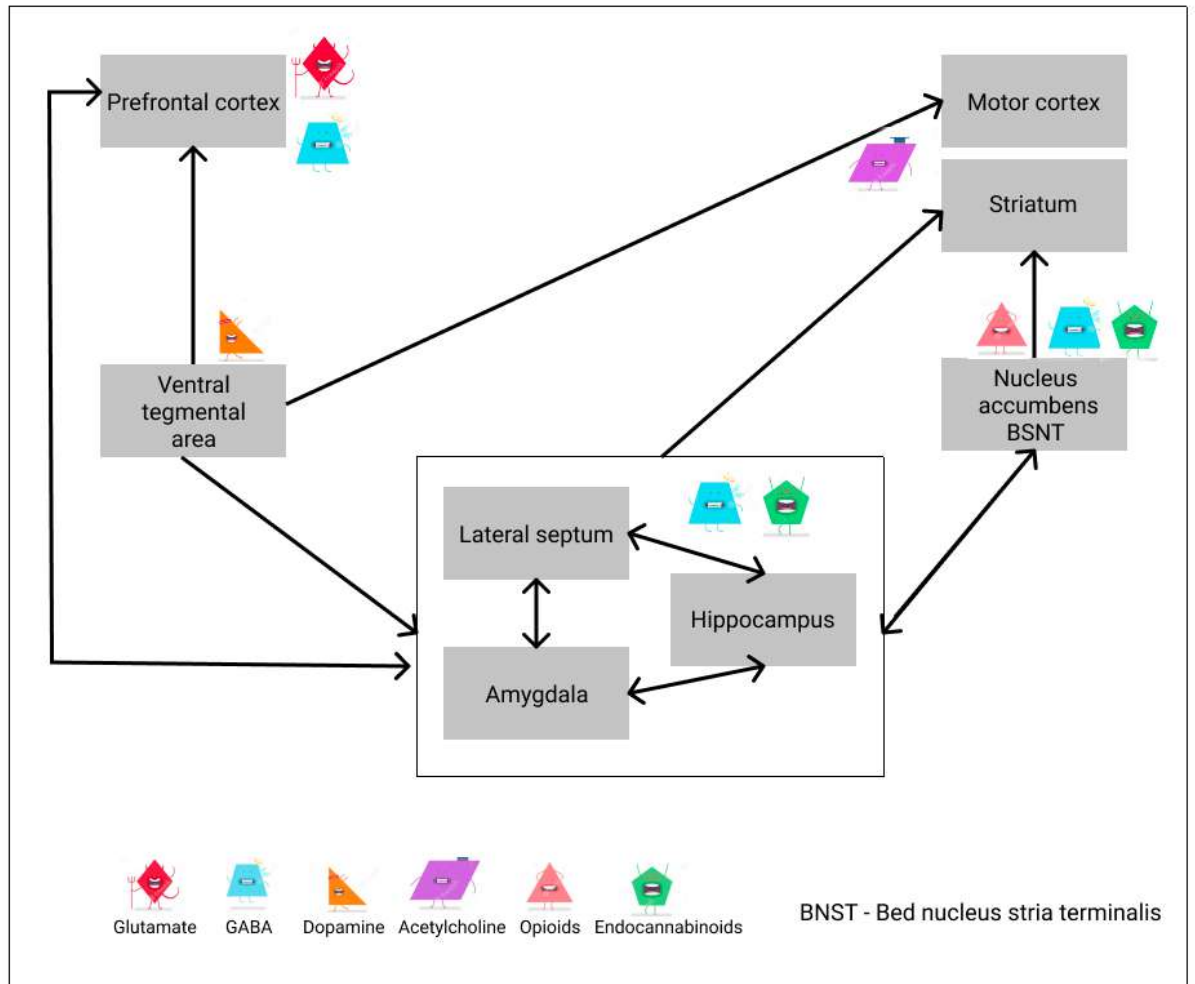
Щодо реакції NO-синтазної системи LS на гостру інтоксикацію етанолом дані досить обмежені. Згідно результатів нашого дослідження етанол активував NOS в LS щурів, але переважно це стосувалося популяції дрібних та середнього розміру нейронів, де кількість клітин збільшилась в порівнянні з контрольною групою і склала  $7.06 \pm 0.67$  клітин на зріз. При цьому кількість NOS-позитивних крупних нейронів не змінилася в порівнянні з контролем і становила  $3.34 \pm 0.32$  клітини на зріз. Також під час ГАІ, очевидно, активувалася трансмісія сигналу через LS з іншими зв'язаними структурами, що проявлялося, як збільшення інтенсивності забарвлення нервових волокон на зрізах. Так як LS має щільні зв'язки з рядом ділянок мозку, які опосередковують нейронні контури формування залежності [7, 18, 45], то факт одночасної активації NOS-позитивних волокон та субпопуляції клітин самого LS дає підстави вважати, що LS бере участь в обробці стимулів і ефектів пов'язаних з алкоголем як безпосередньо, так і в структурі відповідних нейронних контурів. Згідно останніх даних і описаних зв'язків LS [45], одним із ключових кандидатів є гіпокамп, з яким LS має дуже щільні двонаправлені зв'язки. На користь цієї гіпотези говорить і зафіксована сукупна роль LS і гіпокампа у формуванні поведінки, пов'язаної з отриманням винагороди, контекстною і мотиваційною інформацією та емоційним фоном, що супроводжує стимули пов'язані з активацією системи винагоди, класичним представником яких є алкоголь [90, 55, 33].



Натомість при інгібуванні nNOS специфічним інгібітором 7-NI ми спостерігали значне зниження фонового забарвлення для всіх досліджуваних структур, а також зниження активності nNOS, індукованої етанолом для субпопуляцій середніх і дрібних нейронів до рівнів, що суттєво не відрізнялися від контрольної групи і становили  $3.08 \pm 0.44$ , але були значно нижчі таких, що спостерігалися для моделі ГАІ. Кількість NOS-позитивних крупних клітин склала  $7.00 \pm 0.21$  на зріз і не відрізнялася від рівня контрольної групи і групи з ГАІ. Цей факт пояснює поведінкові реакції на ряд інгібіторів NOS, які проявлялися зниженням алкоголь-індукованої локомоторної сенситизації, зменшення споживання етанолу у тварин, зниженням інтенсивності і тривалості синдрому відміни, зменшенням реакції умовної переваги місця (СРР) [242, 79, 83].

Теоретичне узагальнення результатів дослідження і наявних даних дозволило включити LS в схему нейромереж, які активуються при гострому вживанні алкоголю. Основними структурами, які забезпечують підкріплюючу і гедоністичну дію алкоголю є VTA для дофамін-залежного підкріплення та *NAcc/BSNT* для дофамін-незалежного підкріплення, яке опосередковуються ГАМК, опіоїдною і ендоканабіноїдною нейротрансмітерними системами. У випадку алкоголю особливо важливим є ГАМК-сигналінг. VTA також активує префронтальну кору, яка відповідає за імпульсний контроль, прийняття рішень, щодо відповідного контексту і виконавчі функції, впливаючи на баланс збудження-гальмування, що опосередковується відповідно глутамат-ГАМК сигналінгом.

Опираючись на дані, отримані в результаті нашого дослідження та дані літератури, нами запропонована модель структур, які активуються при ГАІ (рис. 6.1):



**Рис. 6.1.** Блок-схема неймережі, яка активується у відповідь на гостру алкогольну інтоксикацію.

При цьому, згідно наших даних і даних літератури, на ранній стадії інтоксикації ймовірно активується комплекс LS-амігдала-гіпокамп (через ГАМК і ендоканабіноїдний сигналінг), який відповідає за емоційний фон і закріплення відповідного контексту-зовнішніх/внутрішніх стимулів та створення асоціативних зв'язків. Визначну роль у активації LS має NO-сигналінг, який включається вже на стадії ранньої реакції на алкоголь. Після чого інтегрована інформація передається до стріатуму та моторних зон, які надалі стануть субстратом формування нейропластичних змін, при якій епізодичне вживання переходить у стійку звичку.

**Результати даної глави були опубліковані:**

**Чайковська, О. В.** (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено вирішення актуальної задачі сучасної нейрофізіології щодо встановлення нейронних механізмів залучення латерального септума в реакцію на гостру алкогольну інтоксикацію в експерименті.

1. Аналіз локального польового потенціалу латерального септума в частотному й частотно-часовому домені виявив наступні закономірності. Під час гострої алкогольної інтоксикації спостерігалася зміна активності в усіх частотних смугах, що доводить активацію латерального септума, на фоні введення етанолу і можливу участь у процесингу алкоголь асоційованих стимулів. Виявлено чіткі спектральні піки в тета й бета-1 частотних зонах. Гостра алкогольна інтоксикація викликала зниження пікової амплітуди в бета-1 частотній області й зміщення піку з  $14.77 \pm 0.22$  Гц на  $13.70 \pm 0.12$  Гц ( $P < 0.05$ ). Зафіксовано збільшення спектральної потужності для дельта, бета-2, гама частотних смуг і для ультрашвидких осциляцій та зменшення потужності для бета-1 ритму. Найбільш значимі зміни потужності стосувалися дельта ( $20110 \pm 2442$  мкВ<sup>2</sup> для фонові та  $38362 \pm 5138$  мкВ<sup>2</sup> для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ), бета-2 частотної зони ( $151 \pm 7.7$  мкВ<sup>2</sup> для фонові та  $260 \pm 23.2$  мкВ<sup>2</sup> для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ) і ультрашвидких осциляцій  $16.7 \pm 3.9$  мкВ<sup>2</sup> для фонові і  $25.3 \pm 3.3$  мкВ<sup>2</sup> для гострої алкогольної інтоксикації,  $P < 0.05$ ). Дані зміни відображають активну реакцію латерального септума на етанол, як у локальному масштабі – бета й ультрашвидкі ритми, так і в структурі глобальної координації зон – дельта осциляції.
2. Гостра алкогольна інтоксикація викликала збільшення рівня нейронного шуму для всього досліджуваного спектру в порівнянні з фоновію

активністю ( $\beta$  з  $-2.57 \pm 0.30$ , CI95 (-2.58 -2.56) для фонової активності й  $-2.15 \pm 0.23$ , CI95 (-2.14 -2.11) для періоду гострої алкогольної інтоксикації ( $P < 0.05$ )). При цьому для специфічних частотних смуг спостерігались наступні закономірності: зниження рівня нейронного шуму для дельта, тета і бета частотної області й збільшення нейронного шуму в гама частотній смузі й в області ультрашвидких осциляцій. Найбільш значимо гостра алкогольна інтоксикація змінила аритмічну активність у дельта частотній смузі ( $\beta$  з  $-2.74 \pm 0.24$ , CI95 (-2.86 -2.62) для фонової активності до  $-3.53 \pm 0.40$ , CI (-3.60 -3.46) для активності під дією етанолу ( $P < 0.01$ )) і в області ультрашвидких осциляцій (коефіцієнт  $\beta$  збільшився з  $-2.33 \pm 0.26$ , CI95 (-2.36 -2.29) для фонової активності до  $-1.47 \pm 0.10$ , CI95 (- 1.49 - 1.44) після введення етанолу, ( $P < 0.01$ )).

3. У ділянці латерального септума морфологічно встановлено дві групи NOS-позитивних нейронів: крупні з нерозгалуженими відростками ( $3.05 \pm 0.34$  клітин на зріз) і середні/дрібні клітини з розгалуженими множинними терміналями ( $3.15 \pm 0.31$  клітин на зріз). Також візуально визначалася зона NOS-позитивних нервових волокон, густо переплетених без чіткої орієнтації. Гостра алкогольна інтоксикація не змінила кількість виявлених крупних NOS-позитивних нейронів ( $3.34 \pm 0.32$  клітин на зріз), натомість збільшилась кількість забарвлених середніх та дрібних нейронів ( $7.06 \pm 0.67$  клітин на зріз,  $p = 0.0122$ ). На фоні введення етанолу також встановлено збільшення інтенсивності забарвлення NOS-позитивних нервових волокон.
4. Блокада NO-синтазної системи на фоні гострого введення етанолу призвела до нівелювання ефекту етанолу й до зниження кількості середніх/дрібних нейронів ( $3.08 \pm 0.44$  клітин на зріз,  $p = 0.0421$  у порівнянні з групою з гострою алкогольною інтоксикацією без блокади). Кількість крупних нейронів склала ( $3.00 \pm 0.21$  клітин на зріз) і суттєво не відрізнялась від контрольної групи. Таким чином, результати нашого

дослідження дають підстави стверджувати, що етанол активує NO-синтазну систему в середніх і дрібних нейронах латерального септума та ймовірно в зонах мозку, які функціонально й структурно пов'язані з латеральним септумом за рахунок активації нервових волокон. У результаті нашого дослідження доведено, що NO-система латерального септума активно реагує на гостру алкогольну інтоксикацію, а блокада нітратної системи усуває ефект гострої алкогольної інтоксикації, що створює перспективи для подальших досліджень цієї структури в контексті вивчення механізмів формування залежностей та терапії розладів вживання алкоголю.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Black, D. W., & Grant, J. E. (2014). *DSM-5® guidebook: the essential companion to the diagnostic and statistical manual of mental disorders*. American Psychiatric Pub.
2. Rehm, J., & Shield, K. D. (2019). Global Burden of Alcohol Use Disorders and Alcohol Liver Disease. *Biomedicines*, 7(4), 99. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7040099>
3. Han, B. H., Moore, A. A., & Sherman, S. Cynthia Kuhn, PhD, Scott Swartzwelder, Phd, Wilkie Wilson, PhD, Buzzed, (New York: WW Norton 2008) 35. Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Office of Applied Studies, Results from the 2013 National Survey on Drug Use and Health: National Findings.
4. Rehm, J., Gmel, G. E., Sr, Gmel, G., Hasan, O., Imtiaz, S., Popova, S., Probst, C., Roerecke, M., Room, R., Samokhvalov, A. V., Shield, K. D., & Shuper, P. A. (2017). The relationship between different dimensions of alcohol use and the burden of disease-an update. *Addiction (Abingdon, England)*, 112(6), 968–1001. <https://doi.org/10.1111/add.13757>
5. Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
6. Reilly, M. T., Noronha, A., Goldman, D., & Koob, G. F. (2017). Genetic studies of alcohol dependence in the context of the addiction cycle. *Neuropharmacology*, 122, 3–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.01.017>
7. Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The lancet. Psychiatry*, 3(8), 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)

8. Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14), 5274–5278. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274>
9. Nestler E. J. (2005). Is there a common molecular pathway for addiction?. *Nature neuroscience*, 8(11), 1445–1449. <https://doi.org/10.1038/nn1578>
10. Le Moal, M., & Koob, G. F. (2007). Drug addiction: pathways to the disease and pathophysiological perspectives. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 17(6-7), 377–393. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2006.10.006>
11. Koob, G. F., Roberts, A. J., Schulteis, G., Parsons, L. H., Heyser, C. J., Hyttiä, P., Merlo-Pich, E., & Weiss, F. (1998). Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 22(1), 3–9.
12. DOLE, V. P., & NYSWANDER, M. (1965). A MEDICAL TREATMENT FOR DIACETYLMORPHINE (HEROIN) ADDICTION. A CLINICAL TRIAL WITH METHADONE HYDROCHLORIDE. *JAMA*, 193, 646–650. <https://doi.org/10.1001/jama.1965.03090080008002>
13. Heilig, M., Egli, M., Crabbe, J. C., & Becker, H. C. (2010). Acute withdrawal, protracted abstinence and negative affect in alcoholism: are they linked?. *Addiction biology*, 15(2), 169–184. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2009.00194.x>
14. Koob, G. F., Buck, C. L., Cohen, A., Edwards, S., Park, P. E., Schlosburg, J. E., Schmeichel, B., Vendruscolo, L. F., Wade, C. L., Whitfield, T. W., Jr, & George, O. (2014). Addiction as a stress surfeit disorder. *Neuropharmacology*, 76 Pt B(0), 370–382. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.024>
15. LeMarquand, D., Pihl, R. O., & Benkelfat, C. (1994). Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: findings of animal studies. *Biological psychiatry*, 36(6), 395–421. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)91215-7](https://doi.org/10.1016/0006-3223(94)91215-7)



16. Rothman, R. B., Blough, B. E., & Baumann, M. H. (2008). Dual dopamine/serotonin releasers: potential treatment agents for stimulant addiction. *Experimental and clinical psychopharmacology*, *16*(6), 458–474. <https://doi.org/10.1037/a0014103>
17. Delfs, J. M., Zhu, Y., Druhan, J. P., & Aston-Jones, G. (2000). Noradrenaline in the ventral forebrain is critical for opiate withdrawal-induced aversion. *Nature*, *403*(6768), 430–434. <https://doi.org/10.1038/35000212>
18. Koob, G. F., Buck, C. L., Cohen, A., Edwards, S., Park, P. E., Schlosburg, J. E., Schmeichel, B., Vendruscolo, L. F., Wade, C. L., Whitfield, T. W., Jr, & George, O. (2014). Addiction as a stress surfeit disorder. *Neuropharmacology*, *76 Pt B*(0), 370–382. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.024>
19. Piazza, P. V., & Le Moal, M. L. (1996). Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *36*, 359–378. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.36.040196.002043>
20. Heimer, L., de Olmos, J., Alheid, G. F., & Záborszky, L. (1991). "Perestroika" in the basal forebrain: opening the border between neurology and psychiatry. *Progress in brain research*, *87*, 109–165. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)63050-2](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)63050-2)
21. Der-Avakian, A., & Markou, A. (2012). The neurobiology of anhedonia and other reward-related deficits. *Trends in neurosciences*, *35*(1), 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.11.005>
22. Koob G. F. (2014). Neurocircuitry of alcohol addiction: synthesis from animal models. *Handbook of clinical neurology*, *125*, 33–54. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00003-3>
23. McFarland, K., & Kalivas, P. W. (2001). The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *The Journal of neuroscience* :

- the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(21), 8655–8663.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-21-08655.2001>
24. George, O., Sanders, C., Freiling, J., Grigoryan, E., Vu, S., Allen, C. D., Crawford, E., Mandyam, C. D., & Koob, G. F. (2012). Recruitment of medial prefrontal cortex neurons during alcohol withdrawal predicts cognitive impairment and excessive alcohol drinking. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(44), 18156–18161. <https://doi.org/10.1073/pnas.1116523109>
25. Jasinska, A. J., Stein, E. A., Kaiser, J., Naumer, M. J., & Yalachkov, Y. (2014). Factors modulating neural reactivity to drug cues in addiction: a survey of human neuroimaging studies. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 38, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.10.013>
26. Niendam, T. A., Laird, A. R., Ray, K. L., Dean, Y. M., Glahn, D. C., & Carter, C. S. (2012). Meta-analytic evidence for a superordinate cognitive control network subserving diverse executive functions. *Cognitive, affective & behavioral neuroscience*, 12(2), 241–268. <https://doi.org/10.3758/s13415-011-0083-5>
27. Bechara, A., Damasio, H., Damasio, A. R., & Lee, G. P. (1999). Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(13), 5473–5481. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-13-05473.1999>
28. Biernacki, K., Terrett, G., McLennan, S. N., Labuschagne, I., Morton, P., & Rendell, P. G. (2018). Decision-making, somatic markers and emotion processing in opiate users. *Psychopharmacology*, 235(1), 223–232. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4760-0>
29. Vilpoux, C., Warnault, V., Pierrefiche, O., Daoust, M., & Naassila, M. (2009). Ethanol-sensitive brain regions in rat and mouse: a cartographic review, using

- immediate early gene expression. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 33(6), 945–969. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.00916.x>
30. Anthony, T. E., Dee, N., Bernard, A., Lerchner, W., Heintz, N., & Anderson, D. J. (2014). Control of stress-induced persistent anxiety by an extra-amygdala septohypothalamic circuit. *Cell*, 156(3), 522–536. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.040>
31. Koolhaas, J. M., Everts, H., de Ruiter, A. J., de Boer, S. F., & Bohus, B. (1998). Coping with stress in rats and mice: differential peptidergic modulation of the amygdala-lateral septum complex. *Progress in brain research*, 119, 437–448. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)61586-1](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)61586-1)
32. Singewald, G. M., Rjabokon, A., Singewald, N., & Ebner, K. (2011). The modulatory role of the lateral septum on neuroendocrine and behavioral stress responses. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 36(4), 793–804. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.213>
33. Wirtshafter, H. S., & Wilson, M. A. (2021). Lateral septum as a nexus for mood, motivation, and movement. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 126, 544–559. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.03.029>
34. Sheehan, T. P., Chambers, R. A., & Russell, D. S. (2004). Regulation of affect by the lateral septum: implications for neuropsychiatry. *Brain research. Brain research reviews*, 46(1), 71–117. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2004.04.009>
35. Soyka, M., Kranzler, H. R., Hesselbrock, V., Kasper, S., Mutschler, J., Möller, H. J., & WFSBP Task Force on Treatment Guidelines for Substance Use Disorders (2017). Guidelines for biological treatment of substance use and related disorders, part 1: Alcoholism, first revision. *The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 18(2), 86–119. <https://doi.org/10.1080/15622975.2016.1246752>

36. Tsanov M. (2018). Differential and complementary roles of medial and lateral septum in the orchestration of limbic oscillations and signal integration. *The European journal of neuroscience*, 48(8), 2783–2794. <https://doi.org/10.1111/ejn.13746>
37. Tsanov M. (2015). Septo-hippocampal signal processing: breaking the code. *Progress in brain research*, 219, 103–120. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2015.04.002>
38. Swanson, L. W., & Cowan, W. M. (1979). The connections of the septal region in the rat. *The Journal of comparative neurology*, 186(4), 621–655. <https://doi.org/10.1002/cne.901860408>
39. Risold, P. Y., & Swanson, L. W. (1997). Connections of the rat lateral septal complex. *Brain research. Brain research reviews*, 24(2-3), 115–195. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(97\)00009-x](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(97)00009-x)
40. Garrido Sanabria, E. R., Castañeda, M. T., Banuelos, C., Perez-Cordova, M. G., Hernandez, S., & Colom, L. V. (2006). Septal GABAergic neurons are selectively vulnerable to pilocarpine-induced status epilepticus and chronic spontaneous seizures. *Neuroscience*, 142(3), 871–883. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.057>
41. Freund, T. F., & Antal, M. (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 336(6195), 170–173. <https://doi.org/10.1038/336170a0>
42. Huh, C. Y., Goutagny, R., & Williams, S. (2010). Glutamatergic neurons of the mouse medial septum and diagonal band of Broca synaptically drive hippocampal pyramidal cells: relevance for hippocampal theta rhythm. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 30(47), 15951–15961. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3663-10.2010>
43. Bihari, A., Hryciyshyn, A. W., & Brudzynski, S. M. (2003). Role of the mesolimbic cholinergic projection to the septum in the production of 22 kHz

- alarm calls in rats. *Brain research bulletin*, 60(3), 263–274.  
[https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(03\)00041-8](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(03)00041-8)
44. Cornwall, J., Cooper, J. D., & Phillipson, O. T. (1990). Afferent and efferent connections of the laterodorsal tegmental nucleus in the rat. *Brain research bulletin*, 25(2), 271–284. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(90\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0361-9230(90)90072-8)
45. Deng, K., Yang, L., Xie, J., Tang, H., Wu, G. S., & Luo, H. R. (2019). Whole-brain mapping of projection from mouse lateral septal nucleus. *Biology open*, 8(7), bio043554. <https://doi.org/10.1242/bio.043554>
46. M'Harzi, M., & Jarrard, L. E. (1992). Effects of medial and lateral septal lesions on acquisition of a place and cue radial maze task. *Behavioural brain research*, 49(2), 159–165. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(05\)80160-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(05)80160-3)
47. Myhrer T. (1989). Exploratory behavior and reaction to novelty in rats: effects of medial and lateral septal lesions. *Behavioral neuroscience*, 103(6), 1226–1233. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.103.6.1226>
48. Wong, L. C., Wang, L., D'Amour, J. A., Yumita, T., Chen, G., Yamaguchi, T., Chang, B. C., Bernstein, H., You, X., Feng, J. E., Froemke, R. C., & Lin, D. (2016). Effective Modulation of Male Aggression through Lateral Septum to Medial Hypothalamus Projection. *Current biology : CB*, 26(5), 593–604. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.065>
49. Thomas, E., Dewolfe, M., Sancar, F., Todi, N., & Yadin, E. (2012). Electrophysiological analysis of the interaction between the lateral septum and the central nucleus of the amygdala. *Neuroscience letters*, 524(2), 79–83. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.07.008>
50. Koolhaas, J. M., Everts, H., de Ruiter, A. J., de Boer, S. F., & Bohus, B. (1998). Coping with stress in rats and mice: differential peptidergic modulation of the amygdala-lateral septum complex. *Progress in brain research*, 119, 437–448. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)61586-1](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)61586-1)
51. Vouimba, R. M., Garcia, R., & Jaffard, R. (1998). Opposite effects of lateral septal LTP and lateral septal lesions on contextual fear conditioning in

- mice. *Behavioral neuroscience*, 112(4), 875–884.  
<https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.4.875>
52. Harvey, J. A., & Yunger, L. M. (1973). Relationship between telencephalic content of serotonin and pain sensitivity. In *Serotonin and behavior* (pp. 179-189). Academic Press.
53. Beatty, W. W., & Schwartzbaum, J. S. (1967). Enhanced reactivity to quinine and saccharine solutions following septal lesions in the rat. *Psychonomic Science*, 8(11), 483-484.
54. Poplawsky, A., & Isaacson, R. L. (1983). Changes in open-field behaviors following septal lesions in rats. *Behavioral and neural biology*, 38(1), 61–69.  
[https://doi.org/10.1016/s0163-1047\(83\)90384-9](https://doi.org/10.1016/s0163-1047(83)90384-9)
55. Wirtshafter, H. S., & Wilson, M. A. (2019). Locomotor and Hippocampal Processing Converge in the Lateral Septum. *Current biology : CB*, 29(19), 3177–3192.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.07.089>
56. Sweeney, P., & Yang, Y. (2016). An Inhibitory Septum to Lateral Hypothalamus Circuit That Suppresses Feeding. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 36(44), 11185–11195.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2042-16.2016>
57. Grey, J. A., & McNaughton, N. (1982). The neuropsychology of anxiety. An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system.
58. Opalka, A. N., & Wang, D. V. (2020). Hippocampal efferents to retrosplenial cortex and lateral septum are required for memory acquisition. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 27(8), 310–318.  
<https://doi.org/10.1101/lm.051797.120>
59. Engelmann M. (2008). Vasopressin in the septum: not important versus causally involved in learning and memory--two faces of the same coin?. *Progress in brain research*, 170, 389–395. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00432-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00432-9)

60. Garcia R. (2002). Stress, synaptic plasticity, and psychopathology. *Reviews in the neurosciences*, 13(3), 195–208. <https://doi.org/10.1515/revneuro.2002.13.3.195>
61. Luo, A. H., Tahsili-Fahadan, P., Wise, R. A., Lupica, C. R., & Aston-Jones, G. (2011). Linking context with reward: a functional circuit from hippocampal CA3 to ventral tegmental area. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6040), 353–357. <https://doi.org/10.1126/science.1204622>
62. Calabrese, V., Mancuso, C., Calvani, M., Rizzarelli, E., Butterfield, D. A., & Stella, A. M. (2007). Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(10), 766–775. <https://doi.org/10.1038/nrn2214>
63. Finnerty, N., O'Riordan, S. L., Klamer, D., Lowry, J., & Pålsson, E. (2015). Increased brain nitric oxide levels following ethanol administration. *Nitric oxide : biology and chemistry*, 47, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2015.03.002>
64. Hirst, D. G., & Robson, T. (2011). Nitric oxide physiology and pathology. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 704, 1–13. [https://doi.org/10.1007/978-1-61737-964-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-61737-964-2_1)
65. Rodrigo, J., D. R. Springall, O. Uttenthal, M. L. Bentura, F. Abadia-Molina, V. Riveros-Moreno, R. Martinez-Murillo, Julia Margaret Polak, and Salvador Moncada. "Localization of nitric oxide synthase in the adult rat brain." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 345, no. 1312 (1994): 175-221.
66. Vincent, S. R., & Kimura, H. (1992). Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience*, 46(4), 755–784. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90184-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90184-4)
67. Liu, H., Li, J., Zhao, F., Wang, H., Qu, Y., & Mu, D. (2015). Nitric oxide synthase in hypoxic or ischemic brain injury. *Reviews in the neurosciences*, 26(1), 105–117. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0041>

68. Persson, M. G., & Gustafsson, L. E. (1992). Ethanol can inhibit nitric oxide production. *European journal of pharmacology*, 224(1), 99–100. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(92\)94826-h](https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)94826-h)
69. Getting, S. J., Segieth, J., Ahmad, S., Biggs, C. S., & Whitton, P. S. (1996). Biphasic modulation of GABA release by nitric oxide in the hippocampus of freely moving rats in vivo. *Brain research*, 717(1-2), 196–199. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00127-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00127-8)
70. Ohkuma, S., Katsura, M., Chen, D.Z., Narihara, H. & Kuriyama, K. Nitric oxide-evoked [3H]γ-aminobutyric acid release is mediated by two distinct release mechanisms. *Brain Res. Mol. Brain Res.*36, 137–144 (1996).
71. Prast, H., Tran, M. H., Fischer, H., & Philippu, A. (1998). Nitric oxide-induced release of acetylcholine in the nucleus accumbens: role of cyclic GMP, glutamate, and GABA. *Journal of neurochemistry*, 71(1), 266–273. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1998.71010266.x>
72. Lorrain, D. S., & Hull, E. M. (1993). Nitric oxide increases dopamine and serotonin release in the medial preoptic area. *Neuroreport*, 5(1), 87–89. <https://doi.org/10.1097/00001756-199310000-00024>
73. Adams, M. L., Meyer, E. R., Sewing, B. N., & Cicero, T. J. (1994). Effects of nitric oxide-related agents on alcohol narcosis. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 18(4), 969–975. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1994.tb00068.x>
74. Vassiljev, V., Kalda, A., Pokk, P., Väli, M., & Zharkovsky, A. (1998). The effects of the nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole on ethanol pharmacokinetics in rats after acute and chronic ethanol administration. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 33(6), 609–615. <https://doi.org/10.1093/alcalc/33.6.609>
75. Itzhak, Y., & Martin, J. L. (2000). Blockade of alcohol-induced locomotor sensitization and conditioned place preference in DBA mice by 7-



- nitroindazole. *Brain research*, 858(2), 402–407. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)01940-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)01940-5)
76. Adams, M. L., Sewing, B. N., Chen, J., Meyer, E. R., & Cicero, T. J. (1995). Nitric oxide-related agents alter alcohol withdrawal in male rats. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 19(1), 195–199. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01492.x>
77. Calapai, G., Mazzaglia, G., Sautebin, L., Costantino, G., Marciano, M. C., Cuzzocrea, S., Di Rosa, M., & Caputi, A. P. (1996). Inhibition of nitric oxide formation reduces voluntary ethanol consumption in the rat. *Psychopharmacology*, 125(4), 398–401. <https://doi.org/10.1007/BF02246024>
78. Gonzaga, N. A., Batistela, M. R., Padovan, D., de Martinis, B. S., Tirapelli, C. R., & Padovan, C. M. (2016). Ethanol withdrawal induces anxiety-like effects: Role of nitric oxide synthase in the dorsal raphe nucleus of rats. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 52, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2016.02.001>
79. Pokk, P., Sepp, E., Vassiljev, V., & Väli, M. (2001). The effects of the nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole on the behaviour of mice after chronic ethanol administration. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 36(3), 193–198. <https://doi.org/10.1093/alcalc/36.3.193>
80. Finnerty, N., O'Riordan, S. L., Klammer, D., Lowry, J., & Pålsson, E. (2015). Increased brain nitric oxide levels following ethanol administration. *Nitric oxide : biology and chemistry*, 47, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2015.03.002>
81. Rezvani, A. H., Grady, D. R., Peek, A. E., & Pucilowski, O. (1995). Inhibition of nitric oxide synthesis attenuates alcohol consumption in two strains of alcohol-preferring rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 50(2), 265–270. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)00310-f](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)00310-f)
82. Naassila, M., Beaugé, F. J., Sébire, N., & Daoust, M. (2000). Intracerebroventricular injection of antisense oligos to nNOS decreases rat

- ethanol intake. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 67(3), 629–636.  
[https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(00\)00407-x](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(00)00407-x)
83. Thériault, R. K., Leri, F., & Kalisch, B. (2018). The role of neuronal nitric oxide synthase in cocaine place preference and mu opioid receptor expression in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 235(9), 2675-2685.
84. García-Pardo, M. P., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., & Aguilar, M. A. (2017). Role of nitric oxide pathway in the conditioned rewarding effects of MDMA in mice. *Behavioural brain research*, 330, 75-77.
85. Zarrindast, M. R., Karami, M., Sepehri, H., & Sahraei, H. (2002). Influence of nitric oxide on morphine-induced conditioned place preference in the rat central amygdala. *European journal of pharmacology*, 453(1), 81-89.
86. Martin, J. L., & Itzhak, Y. (2000). 7-Nitroindazole blocks nicotine-induced conditioned place preference but not LiCl-induced conditioned place aversion. *Neuroreport*, 11(5), 947-949.
87. Kim, H. S., & Park, W. K. (1995). Nitric oxide mediation of cocaine-induced dopaminergic behaviors: ambulation-accelerating activity, reverse tolerance and conditioned place preference in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(2), 551-557.
88. Jonsson, S., Morud, J., Stomberg, R., Ericson, M., & Söderpalm, B. (2017). Involvement of lateral septum in alcohol's dopamine-elevating effect in the rat. *Addiction biology*, 22(1), 93–102. <https://doi.org/10.1111/adb.12297>
89. Porrino, L. J., Williams-Hemby, L., Whitlow, C., Bowen, C., & Samson, H. H. (1998). Metabolic mapping of the effects of oral alcohol self-administration in rats. *Alcoholism, clinical and experimental research*, 22(1), 176–182.
90. McGlinchey, E. M., & Aston-Jones, G. (2018). Dorsal Hippocampus Drives Context-Induced Cocaine Seeking via Inputs to Lateral Septum. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 43(5), 987–1000.  
<https://doi.org/10.1038/npp.2017.144>

91. Jiang, J. X., Liu, H., Huang, Z. Z., Cui, Y., Zhang, X. Q., Zhang, X. L., Cui, Y., & Xin, W. J. (2018). The role of CA3-LS-VTA loop in the formation of conditioned place preference induced by context-associated reward memory for morphine. *Addiction biology*, *23*(1), 41–54. <https://doi.org/10.1111/adb.12468>
92. Ziólkowska, B., Gieryk, A., Solecki, W., & Przewłocki, R. (2015). Temporal and anatomic patterns of immediate-early gene expression in the forebrain of C57BL/6 and DBA/2 mice after morphine administration. *Neuroscience*, *284*, 107–124. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.069>
93. Sotomayor, R., Forray, M. I., & Gysling, K. (2005). Acute morphine administration increases extracellular DA levels in the rat lateral septum by decreasing the GABAergic inhibitory tone in the ventral tegmental area. *Journal of neuroscience research*, *81*(1), 132-139.
94. Sartor, G. C., & Aston-Jones, G. S. (2012). A septal-hypothalamic pathway drives orexin neurons, which is necessary for conditioned cocaine preference. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *32*(13), 4623–4631. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4561-11.2012>
95. Gárate-Pérez, M. F., Méndez, A., Bahamondes, C., Sanhueza, C., Guzmán, F., Reyes-Parada, M., Sotomayor-Zárate, R., & Renard, G. M. (2021). Vasopressin in the lateral septum decreases conditioned place preference to amphetamine and nucleus accumbens dopamine release. *Addiction biology*, *26*(1), e12851. <https://doi.org/10.1111/adb.12851>
96. Buzsáki, G., Anastassiou, C. A., & Koch, C. (2012). The origin of extracellular fields and currents--EEG, ECoG, LFP and spikes. *Nature reviews. Neuroscience*, *13*(6), 407–420. <https://doi.org/10.1038/nrn3241>
97. Cohen M. X. (2017). Where Does EEG Come From and What Does It Mean?. *Trends in neurosciences*, *40*(4), 208–218. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.02.004>
98. Buzsaki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press.

99. Scheffer-Teixeira, R., Belchior, H., Leão, R. N., Ribeiro, S., & Tort, A. B. (2013). On high-frequency field oscillations (>100 Hz) and the spectral leakage of spiking activity. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *33*(4), 1535–1539. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4217-12.2013>
100. Pan, W. J., Thompson, G. J., Magnuson, M. E., Jaeger, D., & Keilholz, S. (2013). Infraslow LFP correlates to resting-state fMRI BOLD signals. *NeuroImage*, *74*, 288–297. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.02.035>
101. Bentley, W. J., Li, J. M., Snyder, A. Z., Raichle, M. E., & Snyder, L. H. (2016). Oxygen Level and LFP in Task-Positive and Task-Negative Areas: Bridging BOLD fMRI and Electrophysiology. *Cerebral cortex (New York, N.Y. : 1991)*, *26*(1), 346–357. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu260>
102. Miller, K. J., Sorensen, L. B., Ojemann, J. G., & den Nijs, M. (2009). Power-law scaling in the brain surface electric potential. *PLoS computational biology*, *5*(12), e1000609. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000609>
103. Ferster D. (1996). Is neural noise just a nuisance?. *Science (New York, N.Y.)*, *273*(5283), 1812. <https://doi.org/10.1126/science.273.5283.1812>
104. Dave, S., Brothers, T. A., & Swaab, T. Y. (2018). 1/f neural noise and electrophysiological indices of contextual prediction in aging. *Brain research*, *1691*, 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.04.007>
105. González-Villar, A. J., Samartin-Veiga, N., Arias, M., & Carrillo-de-la-Peña, M. T. (2017). Increased neural noise and impaired brain synchronization in fibromyalgia patients during cognitive interference. *Scientific reports*, *7*(1), 5841. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06103-4>
106. Pertermann, M., Bluschke, A., Roessner, V., & Beste, C. (2019). The Modulation of Neural Noise Underlies the Effectiveness of Methylphenidate Treatment in Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Biological psychiatry*.

- Cognitive neuroscience and neuroimaging*, 4(8), 743–750.  
<https://doi.org/10.1016/j.bpsc.2019.03.011>
107. Peterson, E. J., Rosen, B. Q., Campbell, A. M., Belger, A., & Voytek, B. (2017). 1/f neural noise is a better predictor of schizophrenia than neural oscillations. *Biorxiv*, 113449. <https://doi.org/10.1101/113449>
108. Voytek, B., Kramer, M. A., Case, J., Lepage, K. Q., Tempesta, Z. R., Knight, R. T., & Gazzaley, A. (2015). Age-Related Changes in 1/f Neural Electrophysiological Noise. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(38), 13257–13265. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2332-14.2015>
109. Hancock, R., Pugh, K. R., & Hoelt, F. (2017). Neural noise hypothesis of developmental dyslexia. *Trends in cognitive sciences*, 21(6), 434-448.
110. Stock, A. K., Pertermann, M., Mückschel, M., & Beste, C. (2020). High-dose ethanol intoxication decreases 1/f neural noise or scale-free neural activity in the resting state. *Addiction biology*, 25(6), e12818.
111. Pfurtscheller, G., & Lopes da Silva, F. H. (1999). Event-related EEG/MEG synchronization and desynchronization: basic principles. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 110(11), 1842–1857. [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(99\)00141-8](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(99)00141-8)
112. Moretti, D. V., Prestia, A., Fracassi, C., Binetti, G., Zanetti, O., & Frisoni, G. B. (2012). Specific EEG changes associated with atrophy of hippocampus in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *International journal of Alzheimer's disease*, 2012, 253153. <https://doi.org/10.1155/2012/253153>
113. McLoughlin, G., Makeig, S., & Tsuang, M. T. (2014). In search of biomarkers in psychiatry: EEG-based measures of brain function. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 165(2), 111-121.

114. Ward, L. M. (2003). Synchronous neural oscillations and cognitive processes. *Trends in cognitive sciences*, 7(12), 553-559.
115. Cohen, M. X. (2017). Where does EEG come from and what does it mean?. *Trends in neurosciences*, 40(4), 208-218.
116. Porjesz, B., Rangaswamy, M., Kamarajan, C., Jones, K. A., Padmanabhapillai, A., & Begleiter, H. (2005). The utility of neurophysiological markers in the study of alcoholism. *Clinical neurophysiology : official journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 116(5), 993–1018. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.12.016>
117. Kamarajan, C., & Porjesz, B. (2015). Advances in Electrophysiological Research. *Alcohol research : current reviews*, 37(1), 53–87.
118. Cohen, H. L., Porjesz, B., & Begleiter, H. (1993). The effects of ethanol on EEG activity in males at risk for alcoholism. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 86(6), 368–376. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(93\)90132-f](https://doi.org/10.1016/0013-4694(93)90132-f)
119. Ehlers, C. L., Phillips, E., Wall, T. L., Wilhelmsen, K., & Schuckit, M. A. (2004). EEG alpha and level of response to alcohol in Hispanic- and non-Hispanic-American young adults with a family history of alcoholism. *Journal of studies on alcohol*, 65(3), 301–308. <https://doi.org/10.15288/jsa.2004.65.301>
120. Lukas, S. E., Mendelson, J. H., Woods, B. T., Mello, N. K., & Teoh, S. K. (1989). Topographic distribution of EEG alpha activity during ethanol-induced intoxication in women. *Journal of studies on alcohol*, 50(2), 176–185. <https://doi.org/10.15288/jsa.1989.50.176>
121. Ehlers, C. L., Wall, T. L., & Schuckit, M. A. (1989). EEG spectral characteristics following ethanol administration in young men. *Electroencephalography and clinical neurophysiology*, 73(3), 179–187. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(89\)90118-1](https://doi.org/10.1016/0013-4694(89)90118-1)

122. Stenberg, G., Sano, M., Rosén, I., & Ingvar, D. H. (1994). EEG topography of acute ethanol effects in resting and activated normals. *Journal of studies on alcohol*, 55(6), 645–656. <https://doi.org/10.15288/jsa.1994.55.645>
123. Rangaswamy, M., & Porjesz, B. (2014). Understanding alcohol use disorders with neuroelectrophysiology. *Handbook of clinical neurology*, 125, 383–414. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00023-9>
124. Tsurugizawa, T., Abe, Y., & Le Bihan, D. (2017). Water apparent diffusion coefficient correlates with gamma oscillation of local field potentials in the rat brain nucleus accumbens following alcohol injection. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 37(9), 3193–3202. <https://doi.org/10.1177/0271678X16685104>
125. Velisar, A., Syrkin-Nikolau, J., Blumenfeld, Z., Trager, M. H., Afzal, M. F., Prabhakar, V., & Bronte-Stewart, H. (2019). Dual threshold neural closed loop deep brain stimulation in Parkinson disease patients. *Brain stimulation*, 12(4), 868-876.
126. Bour, L. J., Ackermans, L., Foncke, E. M. J., Cath, D., Van Der Linden, C., Vandewalle, V. V., & Tijssen, M. A. (2015). Tic related local field potentials in the thalamus and the effect of deep brain stimulation in Tourette syndrome: report of three cases. *Clinical Neurophysiology*, 126(8), 1578-1588.
127. Milekovic, T., Sarma, A. A., Bacher, D., Simeral, J. D., Saab, J., Pandarinath, C., Sorice, B. L., Blabe, C., Oakley, E. M., Tringale, K. R., Eskandar, E., Cash, S. S., Henderson, J. M., Shenoy, K. V., Donoghue, J. P., & Hochberg, L. R. (2018). Stable long-term BCI-enabled communication in ALS and locked-in syndrome using LFP signals. *Journal of neurophysiology*, 120(1), 343–360. <https://doi.org/10.1152/jn.00493.2017>
128. Jafari, Z., Kolb, B. E., & Mohajerani, M. H. (2020). Neural oscillations and brain stimulation in Alzheimer’s disease. *Progress in Neurobiology*, 101878.

129. Heldman, D. A., & Moran, D. W. (2020). Local field potentials for BCI control. In *Handbook of clinical neurology* (Vol. 168, pp. 279-288). Elsevier.
130. Münte, T. F., Heinze, H. J., & Visser-Vandewalle, V. (2012). Deep brain stimulation as a therapy for alcohol addiction. *Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction*, 709-727.
131. Voges, J., Müller, U., Bogerts, B., Münte, T., & Heinze, H. J. (2013). Deep brain stimulation surgery for alcohol addiction. *World neurosurgery*, 80(3-4), S28.e21–S28.e31. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2012.07.011>
132. Chen, L., Li, N., Ge, S., Lozano, A. M., Lee, D. J., Yang, C., Li, L., Bai, Q., Lu, H., Wang, J., Wang, X., Li, J., Jing, J., Su, M., Wei, L., Wang, X., & Gao, G. (2019). Long-term results after deep brain stimulation of nucleus accumbens and the anterior limb of the internal capsule for preventing heroin relapse: An open-label pilot study. *Brain stimulation*, 12(1), 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.09.006>
133. Qu, L., Ge, S., Li, N., Wang, W., Yang, K., Wu, P., Wang, X., & Shi, J. (2019). Clinical evaluation of deep brain stimulation of nucleus accumbens/anterior limb of internal capsule for opioid relapse prevention: protocol of a multicentre, prospective and double-blinded study. *BMJ open*, 9(2), e023516. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-023516>
134. Zhu, Z., Ye, Z., Wang, H., Hua, T., Wen, Q., & Zhang, C. (2019). Theta-gamma coupling in the prelimbic area is associated with heroin addiction. *Neuroscience letters*, 701, 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.02.020>
135. Nukitram, J., Cheaha, D., & Kumarnsit, E. (2021). Spectral power and theta-gamma coupling in the basolateral amygdala related with methamphetamine conditioned place preference in mice. *Neuroscience letters*, 756, 135939. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135939>



136. Doremus-Fitzwater, T. L., Buck, H. M., Bordner, K., Richey, L., Jones, M. E., & Deak, T. (2014). Intoxication- and withdrawal-dependent expression of central and peripheral cytokines following initial ethanol exposure. *Alcoholism, clinical and experimental research*, *38*(8), 2186–2198. <https://doi.org/10.1111/acer.12481>
137. Karlsson, O., & Roman, E. (2016). Dose-dependent effects of alcohol administration on behavioral profiles in the MCSF test. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *50*, 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2015.10.003>
138. Paxinos, G., & Watson, C. (2006). *The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition*. Elsevier.
139. Moroz, V. M., Vlasenko, O. V., Rokunets, I. L., Yoltukhovskii, M. V., & Yankovskaya, L. V. (2010). Coupled Spike Activity in Micropopulations of Motor Cortex Neurons in Rats. *Neurophysiology*, *42*(2), 110-117.
140. Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, *9*(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>
141. RHD2000 Series Digital Electrophysiology Interface Chips RHD2116, RHD2132. Intan Technologies, LLC. Available from [http://intantech.com/files/Intan\\_RHD2000\\_series\\_datasheet.pdf](http://intantech.com/files/Intan_RHD2000_series_datasheet.pdf).
142. E. Pérez-Garci, Y. del-Río-Portilla, M. A. Guevara, et al., “Paradoxical sleep is characterized by uncoupled gamma activity between frontal and perceptual cortical regions,” *Sleep*, **24**, N. 1, 118–126 (2001). <https://doi.org/10.1093/sleep/24.1.118>
143. M. A. A. van der Meer and A. D. Redish, “Low and high gamma oscillations in rat ventral striatum have distinct relationships to behavior, reward, and spiking activity on a learned spatial decision task,” *Front. Integr. Neurosci.*, **3**, 9 (2009). <https://doi.org/10.3389/neuro.07.009.2009>

144. W. Jing, Y. Wang, et al., “EEG bands of wakeful rest, slow-wave and rapid-eye-movement sleep at different brain areas in rats,” *Front. Comput. Neurosci.*, **10**, 79 (2016). <https://doi.org/10.3389/fncom.2016.00079>
145. Welch, P. (1967). The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: a method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Transactions on audio and electroacoustics*, *15*(2), 70-73.
146. Cohen, M. X. (2019). A better way to define and describe Morlet wavelets for time-frequency analysis. *NeuroImage*, *199*, 81-86.
147. Zhou, Y., Sheremet, A., Qin, Y., Kennedy, J. P., DiCola, N. M., Burke, S. N., & Maurer, A. P. (2019). Methodological considerations on the use of different spectral decomposition algorithms to study hippocampal rhythms. *Eneuro*, *6*(4).
148. Yamamoto, Y., & Hughson, R. L. (1993). Extracting fractal components from time series. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, *68*(2), 250–264.
149. Wen, H., & Liu, Z. (2015). Separating Fractal and Oscillatory Components in the Power Spectrum of Neurophysiological Signal. *Purdue University Research Repository*.
150. Wen, H., & Liu, Z. (2016). Separating Fractal and Oscillatory Components in the Power Spectrum of Neurophysiological Signal. *Brain topography*, *29*(1), 13–26. <https://doi.org/10.1007/s10548-015-0448-0>
151. Gonzalez-Zulueta, M., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2001). Histochemical analysis of nitric oxide synthase by NADPH diaphorase staining. *Current protocols in toxicology*, *Chapter 10*, . <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx1006s01>
152. Maisky, V. A., Mankivska, O. P., Maznychenko, A. V., Vlasenko, O. V., Dovgan', O. V., Schomburg, E. D., & Steffens, H. (2016). NADPH-diaphorase reactivity and Fos-immunoreactivity within the ventral horn of the lumbar spinal cord of cats submitted to acute muscle inflammation induced by injection of

- carrageenan. *Acta histochemica*, 118(7), 659–664.  
<https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.09.005>
153. Vincent, S. R., & Kimura, H. (1992). Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience*, 46(4), 755–784.  
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90184-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90184-4)
154. Abrahao KP, Salinas AG, Lovinger DM. Alcohol and the Brain: Neuronal Molecular Targets, Synapses, and Circuits. *Neuron*. 2017 Dec 20;96(6):1223-1238. doi: 10.1016/j.neuron.2017.10.032. PMID: 29268093; PMCID: PMC6566861.
155. Robinson TE, Berridge KC. Review. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2008 Oct 12;363(1507):3137-46. doi: 10.1098/rstb.2008.0093. PMID: 18640920; PMCID: PMC2607325.
156. Abuse, S., & Administration, M. H. S. (2016). 2015 National survey on drug use and health.
157. VanRullen R. Perceptual Cycles. *Trends Cogn Sci*. 2016 Oct;20(10):723-735. doi: 10.1016/j.tics.2016.07.006. Epub 2016 Aug 23. PMID: 27567317.
158. Başar E. Brain oscillations in neuropsychiatric disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2013 Sep;15(3):291-300. doi: 10.31887/DCNS.2013.15.3/ebasar. PMID: 24174901; PMCID: PMC3811101.
159. Musaeus CS, Engedal K, Høgh P, Jelic V, Mørup M, Naik M, Oeksengaard AR, Snaedal J, Wahlund LO, Waldemar G, Andersen BB. EEG Theta Power Is an Early Marker of Cognitive Decline in Dementia due to Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2018;64(4):1359-1371. doi: 10.3233/JAD-180300. PMID: 29991135.
160. Buzsáki G, Draguhn A. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science*. 2004 Jun 25;304(5679):1926-9. doi: 10.1126/science.1099745. PMID: 15218136.

161. von Stein A, Sarnthein J. Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. *Int J Psychophysiol.* 2000 Dec 1;38(3):301-13. doi: 10.1016/s0167-8760(00)00172-0. PMID: 11102669.
162. Lotfullina N, Khazipov R. Ethanol and the Developing Brain: Inhibition of Neuronal Activity and Neuroapoptosis. *Neuroscientist.* 2018 Apr;24(2):130-141. doi: 10.1177/1073858417712667. Epub 2017 Jun 5. PMID: 28580823.
163. Abrahao KP, Pava MJ, Lovinger DM. Dose-dependent alcohol effects on electroencephalogram: Sedation/anesthesia is qualitatively distinct from sleep. *Neuropharmacology.* 2020 Mar 1;164:107913. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107913. Epub 2019 Dec 14. PMID: 31843396; PMCID: PMC7678031.
164. Kamarajan C, Porjesz B, Jones KA, Choi K, Chorlian DB, Padmanabhapillai A, Rangaswamy M, Stimus AT, Begleiter H. The role of brain oscillations as functional correlates of cognitive systems: a study of frontal inhibitory control in alcoholism. *Int J Psychophysiol.* 2004 Jan;51(2):155-80. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2003.09.004. PMID: 14693365; PMCID: PMC3766846.
165. Tsurugizawa T, Abe Y, Le Bihan D. Water apparent diffusion coefficient correlates with gamma oscillation of local field potentials in the rat brain nucleus accumbens following alcohol injection. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017 Sep;37(9):3193-3202. doi: 10.1177/0271678X16685104. Epub 2017 Jan 6. PMID: 28058981; PMCID: PMC5584694.
166. Porjesz B, Begleiter H. Alcoholism and human electrophysiology. *Alcohol Res Health.* 2003;27(2):153-60. PMID: 15303626; PMCID: PMC6668890.
167. Campbell AE, Sumner P, Singh KD, Muthukumaraswamy SD. Acute effects of alcohol on stimulus-induced gamma oscillations in human primary visual and motor cortices. *Neuropsychopharmacology.* 2014 Aug;39(9):2104-

13. doi: 10.1038/npp.2014.58. Epub 2014 Mar 13. PMID: 24622470; PMCID: PMC4057932.
168. Valenzuela CF. Alcohol and neurotransmitter interactions. *Alcohol Health Res World*. 1997;21(2):144-8. PMID: 15704351; PMCID: PMC6826822.
169. Kumar, P. Porcu, D. E. Werner, et al., “The role of GABA<sub>A</sub> receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress,” *Psychopharmacology*, **205**, No. 4, 529–564 (2009). <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1562-z>
170. Baumgarten TJ, Oeltzschner G, Hoogenboom N, Wittsack HJ, Schnitzler A, Lange J. Beta Peak Frequencies at Rest Correlate with Endogenous GABA<sup>+</sup>/Cr Concentrations in Sensorimotor Cortex Areas. *PLoS One*. 2016 Jun 3;11(6):e0156829. doi: 10.1371/journal.pone.0156829. PMID: 27258089; PMCID: PMC4892568.
171. Osinski BL, Kim A, Xiao W, Mehta NM, Kay LM. Pharmacological manipulation of the olfactory bulb modulates beta oscillations: testing model predictions. *J Neurophysiol*. 2018 Sep 1;120(3):1090-1106. doi: 10.1152/jn.00090.2018. Epub 2018 May 30. PMID: 29847235; PMCID: PMC6171064.
172. Sederberg PB, Schulze-Bonhage A, Madsen JR, Bromfield EB, McCarthy DC, Brandt A, Tully MS, Kahana MJ. Hippocampal and neocortical gamma oscillations predict memory formation in humans. *Cereb Cortex*. 2007 May;17(5):1190-6. doi: 10.1093/cercor/bhl030. Epub 2006 Jul 10. PMID: 16831858.
173. Fries P. Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation. *Annu Rev Neurosci*. 2009;32:209-24. doi: 10.1146/annurev.neuro.051508.135603. PMID: 19400723.

174. Roelfsema PR, Engel AK, König P, Singer W. Visuomotor integration is associated with zero time-lag synchronization among cortical areas. *Nature*. 1997 Jan 9;385(6612):157-61. doi: 10.1038/385157a0. PMID: 8990118.
175. Brunel N, Wang XJ. What determines the frequency of fast network oscillations with irregular neural discharges? I. Synaptic dynamics and excitation-inhibition balance. *J Neurophysiol*. 2003 Jul;90(1):415-30. doi: 10.1152/jn.01095.2002. Epub 2003 Feb 26. PMID: 12611969.
176. Schmitz D, Schuchmann S, Fisahn A, Draguhn A, Buhl EH, Petrasch-Parwez E, Dermietzel R, Heinemann U, Traub RD. Axo-axonal coupling: a novel mechanism for ultrafast neuronal communication. *Neuron*. 2001 Sep 13;31(5):831-40. doi: 10.1016/s0896-6273(01)00410-x. PMID: 11567620.
177. Timofeev I, Grenier F, Steriade M. Disfacilitation and active inhibition in the neocortex during the natural sleep-wake cycle: an intracellular study. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Feb 13;98(4):1924-9. doi: 10.1073/pnas.041430398. Epub 2001 Feb 6. PMID: 11172052; PMCID: PMC29358.
178. Tukker, J. J., Beed, P., Schmitz, D., Larkum, M. E., & Sachdev, R. (2020). Up and Down States and Memory Consolidation Across Somatosensory, Entorhinal, and Hippocampal Cortices. *Frontiers in systems neuroscience*, 14, 22. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2020.00022>
179. Harmony T. (2013). The functional significance of delta oscillations in cognitive processing. *Frontiers in integrative neuroscience*, 7, 83. <https://doi.org/10.3389/fnint.2013.00083>
180. Buzsáki, G., & Silva, F. L. (2012). High frequency oscillations in the intact brain. *Progress in neurobiology*, 98(3), 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2012.02.004>
181. Kucewicz, M. T., Cimbalnik, J., Matsumoto, J. Y., Brinkmann, B. H., Bower, M. R., Vasoli, V., Sulc, V., Meyer, F., Marsh, W. R., Stead, S. M., & Worrell, G. A. (2014). High frequency oscillations are associated with cognitive

- processing in human recognition memory. *Brain : a journal of neurology*, 137(Pt 8), 2231–2244. <https://doi.org/10.1093/brain/awu149>
182. Moran, L. V., & Hong, L. E. (2011). High vs low frequency neural oscillations in schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 37(4), 659–663. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbr056>
183. Tseng, S. H., Tsai, L. Y., & Yeh, S. R. (2008). Induction of high-frequency oscillations in a junction-coupled network. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 28(28), 7165–7173. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0950-08.2008>
184. Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature neuroscience*, 16(2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>
185. O'Keefe, J., & Recce, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*, 3(3), 317–330. <https://doi.org/10.1002/hipo.450030307>
186. Bland, B. H., & Oddie, S. D. (2001). Theta band oscillation and synchrony in the hippocampal formation and associated structures: the case for its role in sensorimotor integration. *Behavioural brain research*, 127(1-2), 119-136.
187. Sainsbury, R. S., Heynen, A., & Montoya, C. P. (1987). Behavioral correlates of hippocampal type 2 theta in the rat. *Physiology & behavior*, 39(4), 513-519.
188. Dragoi, G., Carpi, D., Recce, M., Csicsvari, J., & Buzsáki, G. (1999). Interactions between hippocampus and medial septum during sharp waves and theta oscillation in the behaving rat. *Journal of Neuroscience*, 19(14), 6191-6199.
189. Broncel, A., Bocian, R., Kłos-Wojtczak, P., & Konopacki, J. (2018). Medial septal cholinergic mediation of hippocampal theta rhythm induced by vagal nerve stimulation. *PLoS One*, 13(11), e0206532.

190. Bland, B. H. (1986). The physiology and pharmacology of hippocampal formation theta rhythms. *Progress in neurobiology*, 26(1), 1-54.
191. Givens, B. (1995). Low doses of ethanol impair spatial working memory and reduce hippocampal theta activity. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19(3), 763-767.
192. Cortese, B. M., Krahl, S. E., Berman, R. F., & Hannigan, J. H. (1997). Effects of prenatal ethanol exposure on hippocampal theta activity in the rat. *Alcohol*, 14(3), 231-235.
193. Ehlers, C. L., Wall, T. L., & Schuckit, M. A. (1989). EEG spectral characteristics following ethanol administration in young men. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 73(3), 179-187.
194. Jenkinson, N., & Brown, P. (2011). New insights into the relationship between dopamine, beta oscillations and motor function. *Trends in neurosciences*, 34(12), 611–618. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.09.003>
195. Liu, C., Zhou, C., Wang, J., Fietkiewicz, C., & Loparo, K. A. (2020). The role of coupling connections in a model of the cortico-basal ganglia-thalamocortical neural loop for the generation of beta oscillations. *Neural networks : the official journal of the International Neural Network Society*, 123, 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2019.12.021>
196. Chen, Y., Wang, J., Kang, Y., & Ghorri, M. B. (2020). Emergence of Beta Oscillations of a Resonance Model for Parkinson's Disease. *Neural plasticity*, 2020, 8824760. <https://doi.org/10.1155/2020/8824760>
197. Engel, A. K., & Fries, P. (2010). Beta-band oscillations-signalling the status quo?. *Current opinion in neurobiology*, 20(2), 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2010.02.015>
198. Schmidt, R., Herrojo Ruiz, M., Kilavik, B. E., Lundqvist, M., Starr, P. A., & Aron, A. R. (2019). Beta Oscillations in Working Memory, Executive Control of Movement and Thought, and Sensorimotor Function. *The Journal of*



- neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 39(42), 8231–8238. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1163-19.2019>
199. Miller, K. J., Sorensen, L. B., Ojemann, J. G., & Den Nijs, M. (2009). Power-law scaling in the brain surface electric potential. *PLoS computational biology*, 5(12), e1000609.
  200. He, B. J., Zempel, J. M., Snyder, A. Z., & Raichle, M. E. (2010). The temporal structures and functional significance of scale-free brain activity. *Neuron*, 66(3), 353-369.
  201. Beggs, J. M., & Timme, N. (2012). Being critical of criticality in the brain. *Frontiers in physiology*, 3, 163.
  202. Courtney, K. E., & Polich, J. (2009). Binge drinking in young adults: Data, definitions, and determinants. *Psychological bulletin*, 135(1), 142.
  203. Faisal, A. A., Selen, L. P., & Wolpert, D. M. (2008). Noise in the nervous system. *Nature reviews neuroscience*, 9(4), 292-303.
  204. McDonnell, M. D., & Ward, L. M. (2011). The benefits of noise in neural systems: bridging theory and experiment. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(7), 415-425.
  205. Shi, B., Wang, L., Yan, C., Chen, D., Liu, M., & Li, P. (2019). Nonlinear heart rate variability biomarkers for gastric cancer severity: A pilot study. *Scientific reports*, 9(1), 1-9.
  206. Lees, T., Shad-Kaneez, F., Simpson, A. M., Nassif, N. T., Lin, Y., & Lal, S. (2018). Heart rate variability as a biomarker for predicting stroke, post-stroke complications and functionality. *Biomarker insights*, 13, 1177271918786931.
  207. Schiweck, C., Piette, D., Berckmans, D., Claes, S., & Vrieze, E. (2019). Heart rate and high frequency heart rate variability during stress as biomarker for clinical depression. A systematic review. *Psychological Medicine*, 49(2), 200-211.
  208. Nenna, A., Lusini, M., Spadaccio, C., Nappi, F., Greco, S. M., Barbato, R., ... & Chello, M. (2017). Heart rate variability: a new tool to predict

- complications in adult cardiac surgery. *Journal of geriatric cardiology: JGC*, 14(11), 662.
209. Myers, K. A., Bello-Espinosa, L. E., Symonds, J. D., Zuberi, S. M., Clegg, R., Sadleir, L. G., Buchhalter, J., & Scheffer, I. E. (2018). Heart rate variability in epilepsy: A potential biomarker of sudden unexpected death in epilepsy risk. *Epilepsia*, 59(7), 1372–1380. <https://doi.org/10.1111/epi.14438>
210. Tran, T. T., Rolle, C. E., Gazzaley, A., & Voytek, B. (2020). Linked Sources of Neural Noise Contribute to Age-related Cognitive Decline. *Journal of cognitive neuroscience*, 32(9), 1813–1822. [https://doi.org/10.1162/jocn\\_a\\_01584](https://doi.org/10.1162/jocn_a_01584)
211. Hancock, R., Pugh, K. R., & Hoeft, F. (2017). Neural Noise Hypothesis of Developmental Dyslexia. *Trends in cognitive sciences*, 21(6), 434–448. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2017.03.008>
212. Münchau, A., Colzato, L. S., AghajaniAfjedi, A., & Beste, C. (2021). A neural noise account of Gilles de la Tourette syndrome. *NeuroImage. Clinical*, 30, 102654. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102654>
213. Davis, G., & Plaisted-Grant, K. (2015). Low endogenous neural noise in autism. *Autism*, 19(3), 351–362.
214. Lucas, A., Thirion, A., Schwan, R., Krieg, J., Angioi-Duprez, K., Laprevote, V., & Schwitzer, T. (2019). Association between increased retinal background noise and co-occurrent regular cannabis and alcohol use. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 89, 335–340.
215. Marinkovic, K., Beaton, L. E., Rosen, B. Q., Happer, J. P., & Wagner, L. C. (2019). Disruption of frontal lobe neural synchrony during cognitive control by alcohol intoxication. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (144).
216. Kosko, B., & Mitaim, S. (2003). Stochastic resonance in noisy threshold neurons. *Neural Networks*, 16, 755–761.
217. Zou, Y., Miao, D., & Wang, D. (2010). Research on sample entropy of alcoholic and normal people. *Chin J Biomed Eng*, 29, 939–942.

218. Zhu, G., Li, Y., Wen, P. P., & Wang, S. (2014). Analysis of alcoholic EEG signals based on horizontal visibility graph entropy. *Brain informatics, 1*(1-4), 19-25.
219. Davies, M. (2003). The role of GABAA receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system. *Journal of psychiatry & neuroscience*.
220. Brickley, S. G., & Mody, I. (2012). Extrasynaptic GABAA receptors: their function in the CNS and implications for disease. *Neuron, 73*(1), 23-34.
221. Koob, G. F. (2006). A Role for GABA in Alcohol Dependence. *Advances in pharmacology, 54*, 205-229.
222. Molina, V., Bachiller, A., Suazo, V., Lubeiro, A., Poza, J., & Hornero, R. (2016). Noise power associated with decreased task-induced variability of brain electrical activity in schizophrenia. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience, 266*(1), 55-61.
223. Robertson, M. M., Furlong, S., Voytek, B., Donoghue, T., Boettiger, C. A., & Sheridan, M. A. (2019). EEG power spectral slope differs by ADHD status and stimulant medication exposure in early childhood. *Journal of neurophysiology, 122*(6), 2427-2437.
224. Pertermann, M., Mückschel, M., Adelhöfer, N., Ziemssen, T., & Beste, C. (2019). On the interrelation of 1/f neural noise and norepinephrine system activity during motor response inhibition. *Journal of neurophysiology, 121*(5), 1633-1643.
225. Gao, R., Peterson, E. J., & Voytek, B. (2017). Inferring synaptic excitation/inhibition balance from field potentials. *Neuroimage, 158*, 70-78.
226. Mori, C., & Natsuki, R. (1996). *Nihon yakurigaku zasshi. Folia pharmacologica Japonica, 107*(4), 197-203.  
<https://doi.org/10.1254/fpj.107.197>
227. Smith, A., Scofield, M. D., Heinsbroek, J. A., Gipson, C. D., Neuhofer, D., Roberts-Wolfe, D. J., Spencer, S., Garcia-Keller, C., Stankeviciute, N. M.,

- Smith, R. J., Allen, N. P., Lorang, M. R., Griffin, W. C., 3rd, Boger, H. A., & Kalivas, P. W. (2017). Accumbens nNOS Interneurons Regulate Cocaine Relapse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *37*(4), 742–756. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2673-16.2016>
228. Parathath, S. R., Gravanis, I., & Tsirka, S. E. (2007). Nitric oxide synthase isoforms undertake unique roles during excitotoxicity. *Stroke*, *38*(6), 1938-1945.
229. Chong, P. S., Poon, C. H., Fung, M. L., Guan, L., Steinbusch, H., Chan, Y. S., Lim, W. L., & Lim, L. W. (2019). Distribution of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity in adult male Sprague-Dawley rat brain. *Acta histochemica*, *121*(8), 151437. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2019.08.004>
230. Bernstein, H. G., Brisch, R., Ogonlade, V., Heinemann, A., Baumann, B., Arendt, T., Dobrowolny, H., Bogerts, B., & Lüth, H. J. (2004). Detection of nitric oxide synthase (NOS) immunoreactive neurons in the human septal area: a matter of method?. *Journal of chemical neuroanatomy*, *27*(4), 247–250. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2004.03.008>
231. Vlasenko, O. V., Man'kovskaya, Y. P., Maznichenko, A. V., Piliavskii, A. I., & Maiskii, V. A. (2013). Fos immunoreactivity in the motor cortex of rats realizing operant movements: changes after systemic introduction of a NOS blocker. *Neurophysiology*, *45*(1), 79-83.
232. Uzbay, I. T., Grewal, J. S., Wallis, C. J., Dungan, L. F., & Lal, H. (1998). Nitric oxide synthase inhibition attenuates saccharin or ethanol reinforced responding in Long-Evans rats. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, *8*(22), 1411-1423.
233. Schuckit, M. A. (2000). Alcohol-related disorders. In *SadockVA Comprehensive Textbook of Psychiatry. 2000.*
234. Шевчук, В. Г. *Фізіологія. 2-ге видання: Підручник для ВМНЗ IV р. а.* Нова Книга.

235. Черкасов, В. Г. (2010). *Міжнародна анатомічна термінологія (латинські, українські, російські та англійські еквіваленти): Навчальний посібник для ВМНЗ IV р. а.* Нова Книга.
236. Chaikovska, O. V., Rokunets, I. L., Dovhan, O. V., & Vlasenko, O. V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology*, 53(1), 30-40.
237. Chaikovska, O. V. (2021). Effect of acute alcohol intoxication on scale-free neural activity in the lateral septum in rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 403-407. <https://doi.org/10.15421/022155>
238. Chaikovska, O. V., Dovhan, O. V., Rokunets, I. L., Nechiporuk, V. M., & Vlasenko, O. V. (2021). Histochemical characteristics of nitrenergic neuronal system during acute alcohol intoxication and nNOS blockage in the rat lateral septum. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 25(3), 369-375.
239. Чайковська, О. В. (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104.
240. Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>
241. Picón-Pagès, P., Garcia-Buendia, J., & Muñoz, F. J. (2019). Functions and dysfunctions of nitric oxide in brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1865(8), 1949-1967.
242. Auta, J., Gatta, E., Davis, J. M., Zhang, H., Pandey, S. C., & Guidotti, A. (2020). Essential role for neuronal nitric oxide synthase in acute ethanol-induced motor impairment. *Nitric oxide: biology and chemistry*, 100-101, 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2020.04.003>

## ДОДАТКИ

### Додаток А

#### НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Chaikovska, O. V., Rokunets, I. L., Dovhan, O. V., & Vlasenko, O. V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology*, 53(1), 30-40. <https://doi.org/10.1007/s11062-021-09910-8>
2. **Chaikovska, O. V.** (2021). Effect of acute alcohol intoxication on scale-free neural activity in the lateral septum in rats. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 12(3), 403-407. <https://doi.org/10.15421/022155>
3. **Chaikovska, O. V.**, Dovhan, O. V., Rokunets, I. L., Nechiporuk, V. M., & Vlasenko, O. V. (2021). Histochemical characteristics of nitrenergic neuronal system during acute alcohol intoxication and nNOS blockage in the rat lateral septum. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 25(3), 369-375. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25\(3\)-03](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2021-25(3)-03)
4. **Чайковська, О. В.** (2021). "Залучення латерального септума у реакцію центральної нервової системи на гостру алкогольну інтоксикацію." *Клінічна та експериментальна патологія*, 20(4), 99-104.

#### НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. **Chaikovska, O.**, Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics*

*Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>

6. **Chaikovska, O.**, Dovgan, O., Rokunets, I. & Vlasenko, O. Effect of acute alcohol intoxication on 1/f neural noise in lateral septum. Book Of Abstracts. FENS Regional Meeting, Krakow, Poland, 25 – 27 August, 2021, 101.

7. **Чайковська, О.В.** Зміни локального польового потенціалу латерального сетпума в області бета частот під час гострої алкогольної інтоксикації. Матеріали XVIII міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021», Вінниця, 15-17 квітня 2021 р., Вінниця: Міністерство охорони здоров'я України, Вінницький національний медичний університет ім.М.І.Пирогова, 557-558.

8. **Чайковська, О.**, Пономаренко, О., Довгань, О., Рокунець, І., Павлов, С., Власенко, О., & Кривов'яз, О. Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. Матеріали XLIX науково-технічної конференції підрозділів ВНТУ, Вінниця, 27-28 квітня 2020 р.

9. **Chaikovska, O. V.** Backpack-type multichannel electrophysiology system for freely behaving rodents. Book Of Abstracts. FENS-SFN “BRAIN READING AND WRITING: NEW PERSPECTIVES OF NEUROTECHNOLOGY”, 2-8 June 2019, Bertinoro University Centre (CeUB), Italy, 36-37.

#### **АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ:**

- Наукова школа “BRAIN READING AND WRITING: NEW PERSPECTIVES OF NEUROTECHNOLOGY” (2-8 червня 2019 року), Bertinoro University Centre (CeUB), Italy – постерна доповідь, публікація.
- XLIX науково-технічної конференції підрозділів ВНТУ, Вінниця, Україна (27-28 квітня 2020 р.) – публікація.

- XVIII міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2021» (15-17 квітня 2021 р.) Вінниця, Україна – публікація, усна доповідь.
- Federation of European Neuroscience Society Regional Meeting (25-27 серпня 2021 р.), Krakow, Poland – постерна доповідь, публікація.
- Aspects of Neuroscience, Xth edition (26-28 листопада 2021 р.), Warsaw, Poland – постерна доповідь.

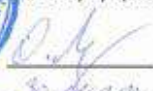



Додаток Б  
Акти впроваджень  
Додаток Б1



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи  
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця

 д.б.н., професор Олена Лук'янець  
 2021 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Назва пропозиції для впровадження:** модель широкополосної багатоканальної системи реєстрації електричних потенціалів у мілких лабораторних тварин.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
3. **Прізвище, ім'я по батькові автора:** Чайковська Ольга Валеріївна.
4. **Джерело інформації:** Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>
5. **Назва установи, яка проводить впровадження:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
6. **Впроваджено:** в науковий процес відділу фізіології рухів.
7. **Термін впровадження:** з листопада 2020 по листопад 2021 року.
8. **Результат впровадження:** система багатоканальної реєстрації електричних потенціалів використана для запису ЕМГ, ЕЕГ, ВП, польових потенціалів головного мозку.
9. **Ефективність впровадження:** система продемонструвала високу ефективність і надійність в гострому експерименті.
10. **Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.

Відповідальний за впровадження  
завідувач відділу фізіології рухів

д.б.н., професор



Олександр КОСТЮКОВ

## Додаток Б2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з навчальної роботи  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М.І. Пирогова МОЗ України



професор Юрій ГУМІНСЬКИЙ

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Багатоканальна система багатоканальної реєстрації електричних потенціалів ЦНС.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
3. **Прізвище, ім'я по батькові автора:** Чайковська Ольга Валеріївна.
4. **Джерело інформації:** Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>
5. **Назва установи, яка проводить впровадження:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
6. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри нормальної фізіології.
7. **Термін впровадження:** з вересня 2019 по листопад 2021 року.
8. **Результат впровадження:** прототип системи багатоканальної реєстрації електричних потенціалів використаний для демонстрації методики вивчення ЦНС в курсі «Фізіологія центральної нервової системи».
9. **Ефективність впровадження:** Поглиблення знань про сучасні методи реєстрації сигналів ЦНС, підвищення ефективності навчання і розвиток практичних навичок студентів.
10. **Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.
11. **Відповідальний за впровадження:** доц. Оксана ОМЕЛЬЧЕНКО

Завідувач кафедри нормальної фізіології  
Вінницького національного університету  
ім. М.І. Пирогова,  
професор

Михайло ЙОЛТУХІВСЬКИЙ

## Додаток БЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з навчальної роботи  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М.І. Пирогова МОЗ України



професор Юрій ГУМІНСЬКИЙ  
25 листопада 2021

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Нейрофізіологічні механізми, які опосередковують гостру алкогольну інтоксикацію.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
3. **Прізвище, ім'я по батькові автора:** Чайковська Ольга Валеріївна.
4. **Джерело інформації:** Chaikovska, O.V., Rokunets, I.L., Dovgan, O.V., Vlasenko, O.V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology* 53, 30 – 40 (2021).
5. **Назва установи, яка проводить впровадження:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
6. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри психіатрії, наркології, загальної і медичної психології ФПО
7. **Термін впровадження:** травень 2021 – листопад 2021 р.
8. **Ефективність впровадження:** Поглиблення знань про участь латерального септума у відповідь на алкогольну інтоксикацію, підвищення ефективності методів дослідження механізмів формування залежності, стимуляція пошуку ефективних терапевтичних рішень.
9. **Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.
10. **Відповідальний за впровадження:** доц. Алла Кондратюк.

Завідувач кафедри психіатрії,  
наркології, загальної і медичної психології ФПО  
Вінницького національного університету  
ім. М.І. Пирогова,  
професор

Оксана СЕРЕБРЕННІКОВА

## Додаток Б4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з навчальної роботи  
Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М.І. Пирогова МОЗ України



професор Юрій ГУМІНСЬКИЙ  
24.11.2021

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Відкрита багатоканальна система реєстрації електричних потенціалів ЦНС.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
3. **Прізвище, ім'я по батькові автора:** Чайковська Ольга Валеріївна.
4. **Джерело інформації:** Chaikovska, O., Ponomarenko, O., Dovgan, O., Rokunets, I., Pavlov, S., Kryvoviaz, O., & Vlasenko, O. (2019). Concept and realization of backpack-type system for multichannel electrophysiology in freely behaving rodents. *Informatics Control Measurement In Economy And Environmental Protection*, 9(4), 64-68. <https://doi.org/10.35784/iapgos.688>
5. **Назва установи, яка проводить впровадження:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
6. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри біологічної фізики, медичної апаратури та інформатики.
7. **Термін впровадження:** з вересня 2020 по вересень 2021 року.
8. **Результат впровадження:** прототип системи багатоканальної реєстрації електричних потенціалів використаний для демонстрації методики запису ЕЕГ, ВП, польових потенціалів головного мозку.
9. **Ефективність впровадження:** Поглиблення знань про сучасні методи реєстрації сигналів ЦНС, підвищення ефективності навчання і розвиток практичних навичок студентів.
10. **Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.
11. **Відповідальний за впровадження:** доц. Олександр НІКОЛЬСЬКИЙ

Завідувач кафедри біологічної фізики, медичної апаратури та інформатики Вінницького національного університету ім. М.І. Пирогова,  
професор



Анатолій КУЛИК



## Додаток Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з наукової роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І. Горбачевського  
Заслужений діяч науки і техніки України,  
доктор біологічних наук, професор ЗВО



Іван КЛІЩ

2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Роль нітргічної пейротрасмітерної система латерального септума в комплексній реакції лімбічної системи.
2. **Заклад, що розробив, його поштова адреса:** Вінницький національний університет ім. М.І. Пирогова, МОЗ України, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018.
3. **Прізвище, ім'я по батькові автора:** Чайковська Ольга Валеріївна.  
**Джерела інформації:** Chaikovska, O.V., Dovhan, O.V., Rokunets, I.L., Nechiporuk, V.M., & Vlasenko, O.V. (2021). Histochemical characteristics of nitrgic neuronal system during acute alcohol intoxication and nNOS blockage in the rat lateral septum. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, 25(3), 369-375.
4. Chaikovska, O.V., Rokunets, I.L., Dovgan, O.V., Vlasenko, O.V. (2021). Effects of Acute Ethanol Intoxication on Local Field Potentials in the Rat Lateral Septum. *Neurophysiology* 53, 30 – 40.
5. **Назва установи, яка проводить впровадження:** Тернопільський національний медичний університет імені І. Горбачевського
6. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри фізіології з основами біоетики та біобезпеки
7. **Термін впровадження:** вересень 2021 – грудень 2021 р.
8. **Ефективність впровадження:** Розширення уявлень про аферентні та ефернетні нейронні зв'язки латерального септума, залучені у відповідь на алкогольну інтоксикацію.
9. **Зауваження та пропозиції організації, що впровадила розробку:** не має.
10. **Відповідальний за впровадження:** доц. Оксана РАТИНСЬКА.

Завідувач кафедри фізіології з основами біоетики та біобезпеки  
Тернопільського національного медичного  
університету імені І. Горбачевського,  
заслужений діяч науки і техніки України,  
д-р. мед. наук, професор

Степан ВАДЗІЮК