



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΝΕΥΡΟΕΠΙΣΤΗΜΩΝ &  
ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ**



**ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΟΥ ΑΓΩΝΙΣΤΗ ΤΩΝ  
CB<sub>1</sub> ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΩΝ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ WIN55,212-2 ΣΤΗΝ  
ΕΝΙΣΧΥΣΗ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟΥ ΕΡΕΘΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗΝ  
ΑΥΘΟΡΜΗΤΗ ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ:  
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΣΕ ΕΠΙΜΥΕΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΜΑΥΡΙΚΑΚΗ ΜΑΡΙΑ – ΥΠΑΚΟΗ (1679)**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ**

**Γ. ΠΑΝΑΓΗΣ**

**ΡΕΘΥΜΝΟ ΙΟΥΝΙΟΣ 2007**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....</b>	<b>6</b>
<b>1. Το Ενδογενές Σύστημα Κανναβινοειδών.....</b>	<b>9</b>
<b>2. Δράσεις Κανναβινοειδών και Πιθανές Θεραπευτικές Εφαρμογές.....</b>	<b>13</b>
A. Πόνος και Σπαστικότητα.....	13
B. Λήψη Τροφής.....	17
Γ. Κινητική Δραστηριότητα.....	18
Δ. Ναυτία και Έμετος.....	19
E. Νευροπροστασία.....	20
Στ. Ενίσχυση και Εξάρτηση.....	21
Z. Αντιεπιληπτικές Δράσεις.....	25
H. Άγχος.....	26
Θ. Γνωστικές Λειτουργίες- Μνήμη.....	27
I. Άλλες Θεραπευτικές Εφαρμογές.....	28
<b>3. Επιδράσεις της Χρόνιας Χορήγησης Κανναβινοειδών.....</b>	<b>30</b>
<b>B.ΣΚΟΠΙΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ.....</b>	<b>34</b>

<b>Γ.ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....</b>	<b>35</b>
1. Πειραματόζωα.....	35
2. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	36
2.1 Χειρουργικές Επεμβάσεις: Στερεοταξική Εμφύτευση Ηλεκτροδίων.....	36
2.2 Το Πρότυπο του Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	36
2.3 Πειραματική Διάταξη και οι Παράμετροι του Ερεθισμού.....	37
2.4 Εκπαίδευση των Πειραματοζώων στη Συμπεριφορά Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	37
2.5 Επεξεργασία και Ανάλυση Δεδομένων.....	38
2.6 Η Μέθοδος Μετατόπισης της Καμπύλης.....	39
2.7 Πειραματική Διαδικασία του Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	40
2.8 Ανάλυση Δεδομένων-Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	41
3. Μελέτη Κινητικότητας.....	41
3.1 Η Μέτρηση της Κινητικότητας.....	41
3.2 Πειραματική Διαδικασία της Μελέτης της Κινητικότητας.....	42
3.3 Ανάλυση Δεδομένων-Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων Κινητικότητας.....	42

<b>Δ.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>43</b>
1. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	43
2. Μελέτη Κινητικής Δραστηριότητας.....	46
<b>Ε.ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>48</b>
1. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού.....	48
2. Μελέτη Κινητικής Δραστηριότητας.....	50
<b>ΣΤ.ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>54</b>
<b>Η. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>56</b>

*«Ὅθεν και οι Επικούρειοι δεικνύναι  
νομίζουσι φύσει αιρετήν είναι την ηδονή  
τα γαρ ζώα φασίν άμα το γενέσθαι αδιαστροφα όντα  
ορμάν μεν επί την ηδονήν, εκκλίνειν δε αλγηδόνας».*

*(Υποτ. ΙΙΙ 194 Επίκουρος, σ.274,25)*

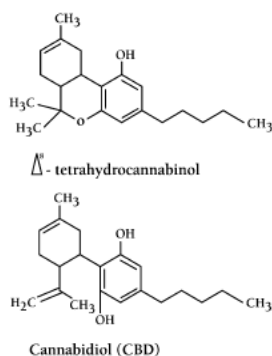
## A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το φυτό της κάνναβης ήταν γνωστό από την αρχαιότητα στους ανατολικούς λαούς. Οι Ασσύριοι το αποκαλούσαν Quonoubou Qunnapu, οι Εβραίοι Quanneb, οι Άραβες Quannob, οι Πέρσες Quonnab, οι Κέλτες Quannab ενώ οι Έλληνες το αποκάλεσαν κάνναβη (Δουρδούνη, 2001).

Το 4.000π.Χ. στην Κίνα το φυτό Cannabis Sativa καλλιεργήθηκε με σκοπό την κατασκευή υφασμάτων και σχοινίων. Οι καρποί του μάλιστα χρησιμοποιήθηκαν ως τροφή. Επιπροσθέτως, οι Κινέζοι είναι και οι πρώτοι που χρησιμοποίησαν την κάνναβη ως φάρμακο για τον πόνο, την ελονοσία και άλλες διαταραχές (Zuardi, 2006). Το φυτό Cannabis Sativa (κάνναβη η ήμερη ή κλωστική) αναπτύσσεται σε ολόκληρο τον κόσμο και ευδοκimei στις πιο θερμές και τροπικές περιοχές (Τζάφφη και συνεργάτες, 1980).

Το φυτό Cannabis Sativa περιέχει πάνω από 60 δραστικά συστατικά (Begg, Pacher, Batkai, Osei-Hyiaman, Offertaler, Mo, Liu & Kunos, 2005). Το κύριο δραστικό συστατικό του φυτού είναι η Δέλτα<sup>9</sup>-Τετραϋδροκανναβινόλη (Δ<sup>9</sup>-THC) ενώ σε μικρότερες ποσότητες υπάρχει τόσο η κανναβινόλη όσο και η κανναβιδιόλη (Julien, 2003). Πρώτα ανακαλύφθηκε η κανναβινόλη, το 1895 ενώ η κανναβιδιόλη το 1934. Τέλος, ανακαλύφθηκε η Δ<sup>9</sup>-THC (βλέπε **Εικόνα 1**), το 1964 (Robson, 2001).

Κάψουλες δροναβινόλης, συνθετικής δηλαδή Δ<sup>9</sup>-THC είναι διαθέσιμες στις Η.Π.Α. για περιορισμένη ιατρική χρήση από το 1985, ενώ η ναβιλόνη, συνθετικό ανάλογο της Δ<sup>9</sup>-THC, που κυκλοφορεί από το 1983 στις Η.Π.Α. είναι το μοναδικό κανναβινοειδές που είναι διαθέσιμο για συνταγογράφηση στην Αγγλία ως θεραπεία για την ναυτία (Robson, 2001).



**Εικόνα 1: Χημική δομή Δ<sup>9</sup>-THC και κανναβιδιόλης**

(Από: Amer, 2006).

Μια δεύτερη ποικιλία είναι η Cannabis Indica η οποία έχει περισσότερη ρητίνη συγκριτικά με την Cannabis Sativa είναι όμως ακατάλληλη για την παρασκευή σχοινοῦ και κλωστής. Το 2.000π.Χ. η Cannabis Indica αποτελούσε το ένα από τα τέσσερα ιερά φυτά της Ινδίας, ονομαζόταν Veda και ήταν ένα από τα συστατικά του ιερού ποτού Soma το οποίο θεωρείτο ανάλογο του νέκταρ των θεών του Ολύμπου.

Τέλος, μια τρίτη ποικιλία του φυτού είναι η Cannabis Ruderalis και πρόκειται για την ποικιλία στην οποία αναφέρεται ο Ηρόδοτος. Κατά τον Ηρόδοτο, οι Σκύθες σε τελετές κάθαρσης σχετιζόμενες με την ταφή νεκρών έκαναν χρήση ινδικής κάνναβης, ενώ οι Θράκες χρησιμοποιούσαν την κάνναβη για να κατασκευάσουν σχοινιά και υφάσματα (Δουρδούνη, 2001).

Φαίνεται ότι υπάρχουν διάφορα παράγωγα της κάνναβης και τα ονόματα που χρησιμοποιούνται για τα παράγωγα αυτά είναι: μαριχουάνα, χασίς, σάρας, μπάνγκ, γκάντζα, sinsemilla. Το χασίς και το σάρας έχουν περιεκτικότητα σε  $\Delta^9$ -THC κατά μέσο όρο 10-20% και είναι τα πιο ισχυρά σκευάσματα τα οποία αποτελούνται από το αποξηραμένο ρητινώδες εξίδρωμα των θηλυκών ανθών. Τόσο η γκάντζα όσο και η sinsemilla αναφέρεται στο αποξηραμένο υλικό των ακροτελεύτιων τμημάτων των θηλυκών φυτών με περιεκτικότητα σε  $\Delta^9$ -THC 5-8%. Τέλος, το μπάνγκ και η μαριχουάνα λαμβάνονται από το υπόλοιπο τμήμα του φυτού και έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε δραστικά συστατικά και η περιεκτικότητά τους σε  $\Delta^9$ -THC κυμαίνεται από 2 μέχρι 5 %.

Μέχρι την δεκαετία του '90, η μαριχουάνα ταξινομούταν ως κατασταλτικό-υπνωτικό με βάση τις συμπεριφορικές της επιδράσεις, έχοντας δράσεις παρόμοιες με εκείνες των χαμηλών δόσεων αλκοόλης και βενζοδιαζεπινών. Φάνηκε όμως ότι ενώ τα κατασταλτικά σε μεγάλες δόσεις καταστέλλουν την αναπνοή και συχνά είναι θανατηφόρα, στην περίπτωση της  $\Delta^9$ -THC δεν έχουν παρατηρηθεί τέτοιες ενέργειες. Παρ' όλα αυτά, έχει παρατηρηθεί μικρού βαθμού διασταυρούμενη αντοχή ανάμεσα στην  $\Delta^9$ -THC και τα κατασταλτικά-υπνωτικά (Julien, 2003).

Η  $\Delta^9$ -THC πέραν των δράσεών της που ασκεί μέσω του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών, όπως θα δούμε αναλυτικά παρακάτω, φαίνεται ότι αυξάνει και την μεταιχμιακή ντοπαμινεργική δραστηριότητα των κυκλωμάτων ανταμοιβής στον εγκέφαλο και ιδιαιτέρως από την περιοχή του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου έως τον επικλινή πυρήνα και τον μέσο προμετωπιαίο φλοιό. Καθώς οι υποδοχείς των κανναβινοειδών δεν εντοπίζονται σε ντοπαμινεργικούς νευρώνες θεωρείται ότι η

δράση των κανναβινοειδών στο ντοπαμινεργικό σύστημα είναι μάλλον έμμεση (Kolb, Gorny, Limebeer & Parker, 2006).

Οι συμπεριφορικές και υποκειμενικές δράσεις της κάνναβης διαφοροποιούνται με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο καθώς: σε μικρές δόσεις προκαλεί ήπια ευφορία, χαλάρωση, μεταβολές στην αισθητηριακή αντίληψη, μείωση της ικανότητας επίλυσης προβλημάτων, διαταραχές στην ψυχοκινητική δραστηριότητα και την βραχυπρόθεσμη μνήμη, μειωμένη αντίληψη του πόνου, λογόρροια, ταχυκαρδία και αύξηση της όρεξης ενώ σε μεγαλύτερες δόσεις: προκαλεί δυσφορία, αλλαγές στην προσωπικότητα (Παναγής & Καστελλάκης, 2006) και είναι δυνατόν να αναπτυχθεί τοξική ψύχωση (Harvey & Champe, 1995). Στις ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνεται επιπλέον και την αύξηση του καρδιακού ρυθμού αλλά και ερυθρότητα των επιπεφυκώτων (Harvey & Champe, 1995). Οι μακροπρόθεσμες δράσεις της κάνναβης αναφέρονται σε αναπνευστικές, ενδοκρινικές, πνευμονικές τοξικές επιδράσεις (Green, 1998).

Σήμερα η κάνναβη αποτελεί μια από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες απαγορευμένες ψυχοτρόπους ουσίες καθώς θεωρείται ότι τουλάχιστον το ένα τρίτο του ενήλικου πληθυσμού παγκοσμίως έχει κάνει χρήση της τουλάχιστον μια φορά στη ζωή του. Μια πρόσφατη ανασκόπηση στην Αυστραλία αναφέρει ότι περίπου το 62% των αντρών και το 56% των γυναικών ηλικίας 20-29 ετών έχουν κάνει χρήση της τουλάχιστον μια φορά ενώ το 16% των αντρών και το 8.6% των γυναικών έκαναν χρήση κάνναβης εντός της τελευταίας εβδομάδας (Singh, McGregor & Mallet, 2005).



## 1. ΤΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΣ ΣΥΣΤΗΜΑ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ

Η έρευνα για το σύστημα των κανναβινοειδών παρουσιάζει πολλά κοινά στοιχεία με την έρευνα για το σύστημα των οπιοειδών, καθώς η απομόνωση και η μελέτη των δραστικών συστατικών των φυτών έδωσε το έναυσμα για την ανακάλυψη του εκάστοτε ενδογενούς συστήματος (Παναγής & Καστελλάκης, 2006). Γενικά, στα κανναβινοειδή συμπεριλαμβάνονται τόσο τα δραστικά συστατικά του φυτού της κάνναβης όσο και ενδογενή κανναβινοειδή λιπίδια καθώς και διάφορα συνθετικά ανάλογα.

Φαρμακολογικές μελέτες έδειξαν συγκεκριμένη σχέση δομής-δράσης για τα κανναβινοειδή υποδεικνύοντας την μεσολάβηση υποδοχέα τους (Begg et al., 2005). Τα κανναβινοειδή, πράγματι, ασκούν τις δράσεις τους αλληλεπιδρώντας με εξειδικευμένους υποδοχείς που συζευγνύονται με πρωτεΐνες G: υποδοχείς κανναβινοειδών (CB) (Devane et al., 1988). Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί δυο υπότυποι CB υποδοχέων, πρόκειται για τους CB<sub>1</sub> και CB<sub>2</sub> υποδοχείς (Schatz, Lee, Condie, Pulaski & Kaminski, 1997; Robson, 2001; Begg et al., 2005; Drews et al., 2005; Petruwee, 2005). Θα πρέπει ωστόσο να επισημανθεί ότι υπάρχουν ενδείξεις για τη ύπαρξη επιπλέον υποδοχέων για τα κανναβινοειδή αν και δεν έχουν ακόμα ταυτοποιηθεί (Begg et al., 2005). Η Δ<sup>9</sup>-THC δεσμεύεται και ενεργοποιεί τόσο τους CB<sub>1</sub> όσο και τους CB<sub>2</sub> υποδοχείς. Παρ' όλα αυτά, διάφορα συνθετικά ανάλογα των κανναβινοειδών έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τους CB<sub>1</sub> και CB<sub>2</sub> υποδοχείς και γι' αυτό είναι και ισχυρότερα αλλά και πιο υδατοδιαλυτά συγκριτικά με την Δ<sup>9</sup>-THC (Marzo, 2006).

Ο CB<sub>1</sub> υποδοχέας ταυτοποιήθηκε το 1988 με κλασική μελέτη δέσμησης (Devane et al., 1988), ενώ δύο χρόνια μετά πραγματοποιήθηκε η χαρτογράφηση της κατανομής στον εγκέφαλο (Herkenham, 1990) και η κλωνοποίησή του (Matsuda et al., 1990). Το 1993 κλωνοποιείται και ένας δεύτερος περιφερικός υποδοχέας ο CB<sub>2</sub> (Munro et al., 1993).

Οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς κανναβινοειδών ανευρίσκονται κατά κύριο λόγο στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) και στο Περιφερικό Νευρικό Σύστημα (ΠΝΣ) (Jarbe & DiPatrizio, 2005). Παρ' όλα αυτά, οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς εκφράζονται σε κάποιο βαθμό και σε ορισμένα περιφερικά όργανα συμπεριλαμβανομένων των ενδοκρινών αδένων, του σπλήνα, της καρδιάς, των αναπαραγωγικών οργάνων και των λευκών αιμοσφαιρίων. Στο ΚΝΣ πλούσιες σε CB<sub>1</sub> υποδοχείς θεωρούνται περιοχές όπως τα βασικά γάγγλια, η

παρεγκεφαλίδα, ο ιππόκαμπος, ο μετωπιαίος φλοιός και οι ραχιαίες ρίζες του νωτιαίου μυελού περιοχές που σχετίζονται με την κινητική λειτουργία, την μνήμη, τον πόνο και την αλλοίωση της αισθητηριακής αντίληψης που προκαλούν τα κανναβινοειδή. Στον αντίποδα, παρατηρείται παντελής απουσία CB<sub>1</sub> υποδοχέων από το εγκεφαλικό στέλεχος γεγονός που εξηγεί γιατί η μαριχουάνα δεν επηρεάζει βασικές ζωτικές λειτουργίες όπως η αναπνοή (Herkenham, Lynn, Johnson, Melvin, De Costa & Rise, 1990). Οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς εκφράζονται προσυναπτικά σε νευρώνες και η διέγερσή τους αναστέλλει την απελευθέρωση άλλων νευροδιαβιβαστών από τις προσυναπτικές απολήξεις των νευρώνων (Schlicker et al., 2001). Οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς παρουσιάζουν νευροποστατευτικές δράσεις σε διάφορες περιπτώσεις εγκεφαλικού τραύματος και παρατηρούνται αλλαγές στην έκφρασή τους σε διάφορες νευροαναπτυξιακές διαταραχές (Galve-Roperh, Aguado, Palazuelos, & Guzman, 2007). Η ενεργοποίηση των CB<sub>1</sub> υποδοχέων φαίνεται ότι σχετίζεται με τις ψυχοδιεγερτικές επιδράσεις των κανναβινοειδών. Επιπλέον, η φαρμακολογική αντοχή που εμφανίζεται έπειτα από την χρόνια χορήγηση Δ<sup>9</sup>-THC φαίνεται ότι σχετίζεται με την διαθεσιμότητα των CB<sub>1</sub> υποδοχέων (Romero, Garcia-Palomero, Castro, Garcia-Gil, Ramos & Fernandez-Ruiz, 1997).

Οι CB<sub>2</sub> υποδοχείς εντοπίζονται κυρίως στο λεμφικό σύστημα, εύρημα που έχει συσχετιστεί με την ανοσοκατασταλτική δράση της μαριχουάνας (Lynn, 1994). Οι εν λόγω υποδοχείς εκφράζονται στα κύτταρα T (Schatz et al., 1997).

Η ύπαρξη υποδοχέων για την Δ<sup>9</sup>-THC μετατόπισε το ενδιαφέρον στην αναζήτηση ενδογενών ουσιών που δρουν στους υποδοχείς αυτούς, με αποτέλεσμα την ανακάλυψη πέντε λιποδιαλυτών μορίων, που καλούνται ενδογενή κανναβινοειδή

1. Ανανταμίδιο (Devane, Hanus, Breuer, Pertwee, Stevenson, Griffin, Gibson, Mandelbaum, Etinger, Mechoulam, 1992)
2. 2-Αραχιδονυλογλυκερόλη (Mechoulam, Ben-Shabat, Hanus, Ligumsky, Kaminski, Schatz, Gopher, Almog, Martin & Compton, 1995).
3. Νολαδιναιθέρας
4. N-αραχιδονυλντοπαμίνη
5. Βιροδαμίνη (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

Το ανανταμίδιο χαρακτηρίστηκε για πρώτη φορά από τον Devane και τους συνεργάτες του το 1992 (Devane et al., 1992). Δρα ως μερικός αγωνιστής κυρίως των CB<sub>1</sub> αλλά και των CB<sub>2</sub> υποδοχέων, έχει όμως μεγαλύτερη συγγένεια με τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς (Di Marzo, De Petrocellis, Sepe, Buono, 1996; Howlett et al., 2002). Δεν

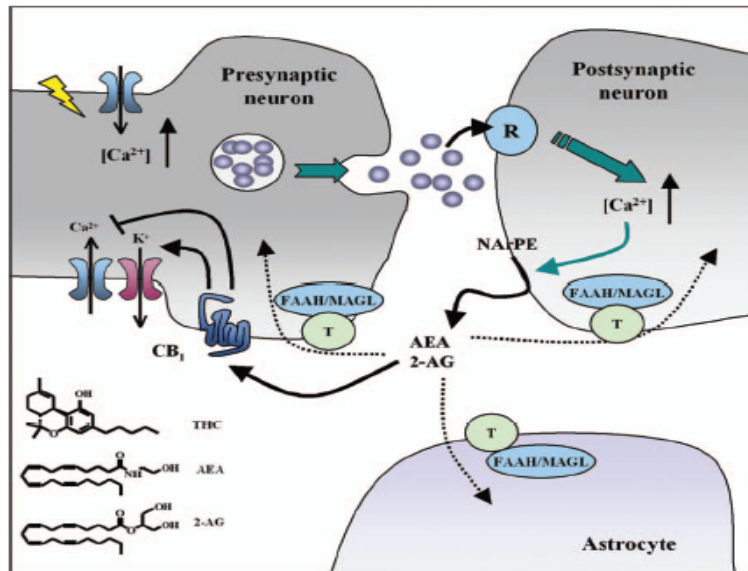
μοιάζει δομικά με τη  $\Delta^9$ -THC παρά μόνο στην τρισδιάστατη μορφή τους όπου τα δύο αυτά μόρια είναι σχεδόν όμοια (Julien, 2003). Οι συμπεριφορικές επιδράσεις του ανανταμιδίου είναι δύσκολο να εκτιμηθούν λόγω της ταχείας απενεργοποίησής του (Solinas, Tanda, Justinova, Wertheim, Yasar, Piomelli, Vadivel, Makriyannis & Goldberg, 2007).

Η 2-αραχιδονυλογλυκερόλη είναι πλήρης αγωνιστής τόσο των CB<sub>1</sub> όσο και των CB<sub>2</sub> υποδοχέων (Sugiura, Kondo, Sukagawa, Nakane, Shinoda, Itoh, Yamashita, Waku, 1995) αλλά με μικρότερη συγγένεια με τους εν λόγω υποδοχείς από ότι το ανανταμίδιο. Τόσο το ανανταμίδιο όσο και η 2-αραχιδονυλογλυκερόλη θεωρούνται τα πλέον μελετημένα εκ των ενδογενών κανναβινοειδών. Γνωρίζουμε ότι πρόκειται για ουσίες αρκετά λιποδιαλυτές οι οποίες όμως δεν αποθηκεύονται σε κυστίδια όπως οι νευροδιαβιβαστές. Τα μόρια αυτά συντίθενται ταχύτατα από τους νευρώνες ως απόκριση σε εκπόλωση και συνακόλουθη αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου και απελευθερώνονται στη συναπτική σχισμή με την διαδικασία της διάχυσης από την κυτταροπλασματική μεμβράνη του προσυναπτικού κυττάρου (Παναγής & Καστελλάκης, 2006- βλ. **Εικόνα 2**). Η απελευθέρωσή τους ακολουθείται από την ταχύτατη απενεργοποίησή τους μέσω της επαναπρόσληψης και του μεταβολισμού. Τόσο το ανανταμίδιο όσο και η 2-αραχιδονυλογλυκερόλη μεταβολίζονται με υδρόλυση από το ένζυμο υδρολάση του αμιδίου των λιπαρών οξέων (FAAH) (Cravatt & Lichtman, 2004).

Ο νολαδιναιθέρας, η ν-αραχιδονυλντοπαμίνη και η βιροδαμίνη έχουν βρεθεί προσφάτως, στο ΚΝΣ. Σήμερα είναι γνωστό ότι τα μόρια αυτά προσδένονται στους υποδοχείς κανναβινοειδών όμως δεν γνωρίζουμε ακόμα τον φυσιολογικό τους ρόλο. Παρ' όλα αυτά, γνωρίζουμε ότι η βιροδαμίνη δρα ως ανταγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων. Οι φαρμακολογικές ιδιότητες των ενδογενών κανναβινοειδών φαίνεται να είναι ιδιαίτερες όμοιες με αυτές των συνθετικών κανναβινοειδών (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

Το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών ασκεί νευρορυθμιστικές επιδράσεις σε πολλές διαφορετικές εγκεφαλικές περιοχές ενώ ταυτόχρονα φαίνεται ότι σχετίζεται με διαδικασίες ρύθμισης του θανάτου των νευρικών κυττάρων (Galve-Roperh, Aguado, Palazuelos, & Guzman, 2007). Πιστεύεται μάλιστα ότι στο μέλλον θα ταυτοποιηθούν και άλλες περιοχές όπου τα κανναβινοειδή παρουσιάζουν παρόμοια δράση. Φαίνεται ότι ρυθμίζει όχι μόνο λειτουργίες του ΚΝΣ αλλά και άλλων συστημάτων συμπεριλαμβανομένων του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ), του

ενδοκρινικού συστήματος, του ανοσοποιητικού, του αναπαραγωγικού, του καρδιαγγειακού καθώς και του γαστρεντερικού. Το ενδογενές αυτό σύστημα αποτελεί ένα ενεργό σύστημα καθώς απελευθερώνει με σταθερό ρυθμό ενδογενή κανναβινοειδή σε διάφορες περιπτώσεις (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).



**Εικόνα 2: Προσυναπτική νευρωνική ενεργοποίηση οδηγεί στην έκκριση νευροδιαβιβαστών και προκαλεί την αύξηση των επιπέδων ασβεστίου στο μετασυναπτικό κύτταρο ενώ ενεργοποιείται η παραγωγή ανανταμιδίου και 2-αραχιδονυλογλυκερόλης (Από:Galve-Roperh et al., 2007).**

Τα ενδογενή κανναβινοειδή ρυθμίζουν την έκκριση νευροδιαβιβαστών και σχετίζονται με διάφορες λειτουργίες όπως η κίνηση, οι γνωστικές λειτουργίες, το συναίσθημα, η αισθητηριακή αντίληψη και η λήψη τροφής. Νεότερα ερευνητικά δεδομένα υποστηρίζουν την παρουσία λειτουργικού ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών σε πρωτόγονα κύτταρα που συμμετέχουν σε διαδικασίες κυτταρικού πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης (Galve-Roperh et al., 2007).

Ανακεφαλαιώνοντας και συνοψίζοντας, το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών περιλαμβάνει:

1. Ποικίλα μηνυματοφόρα μορία, από τα οποία καλύτερα έχουν μελετηθεί το ανανταμίδιο και η 2-αραχυλοδουλ-γλυκερόλη
2. διάφορα ένζυμα που συμβάλουν στο μεταβολισμό και την απενεργοποίηση των ενδογενών κανναβινοειδών
3. Τουλάχιστον δύο τύπους CB υποδοχέων (Cravatt & Lichtman, 2004).

Η ανακάλυψη νέων συνθετικών κανναβινοειδών ανάμεσα στα άλλα οδήγησε την έρευνα και στην αναζήτηση του ρόλου του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών στην ενίσχυση και στην παθοφυσιολογία του εθισμού (Vlachou, Nomikos & Panagis, 2003).

## **2. ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ**

Τα ενδογενή κανναβινοειδή ρυθμίζουν την έκκριση νευροδιαβιβαστών και εμπλέκονται σε διάφορες πτυχές της συμπεριφοράς όπως η κίνηση, οι γνωστικές λειτουργίες (μνήμη, συγκέντρωση κ.τ.λ.), το συναίσθημα, η αισθητηριακή αντίληψη, ενδοκρινικές λειτουργίες καθώς και η λήψη τροφής (Drews et al., 2005; Galve-Roperh, et al., 2007).

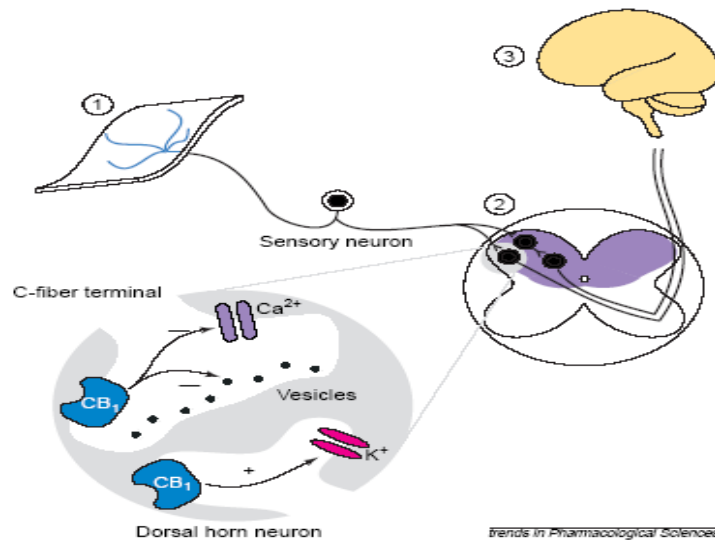
Οι δράσεις αυτές των ενδογενών κανναβινοειδών σχετίζονται με τις θεραπευτικές ιδιότητες της κάνναβης. Η χρήση της κάνναβης ως θεραπευτικής αγωγής χρονολογείται από τα προχριστιανικά χρόνια στην περιοχή της Ασίας και συγκεκριμένα στην Ινδία. Αντίθετα, στο Δυτικό Κόσμο η κάνναβη χρησιμοποιήθηκε ως θεραπευτική αγωγή μόλις στα μέσα του 19<sup>ου</sup> αιώνα ενώ έγινε περισσότερο αποδεκτή τις τελευταίες δεκαετίες (Zuardi, 2006).

Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα κανναβινοειδή παρουσιάζουν διάφορες θεραπευτικές εφαρμογές συμπεριλαμβανομένων των αντιεμετικών ιδιοτήτων τους, των διεγερτικών της όρεξης σε κακοήθεις νόσους όπως ο καρκίνος και το AIDS, των αναλγητικών ιδιοτήτων αλλά και ως θεραπεία για την πολλαπλή σκλήρυνση, για τραύματα στο νωτιαίο μυελό, για το Σύνδρομο Tourette, την επιληψία και το γλαύκωμα (Amer, 2006).

### **A. Πόνος και Σπαστικότητα**

Τα κανναβινοειδή φαίνεται ότι σχετίζονται με την ρύθμιση του πόνου μέσω της δράσης τους στους CB<sub>1</sub> υποδοχείς στον εγκέφαλο, τον νωτιαίο μυελό και τους περιφερικούς αισθητικούς νευρώνες (Piomelli, Giuffrida, Calignano & Fonseca, 2000; Cravatt & Lichtman, 2004). Στις εγκεφαλικές περιοχές που σχετίζονται με την αντίληψη του πόνου συμπεριλαμβάνονται η αμυγδαλή, ο θάλαμος, τα άνω διδύμια, η περιϋδραγωγός φαιά ουσία και ο προμήκης μυελός. Στο νωτιαίο μυελό, οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς ανευρίσκονται στο οπίσθιο κέρασ και στο πέταλο X όπου ανευρίσκονται

στους νωτιαίους νευρώνες, τις νευρικές απολήξεις των προσαγωγών αισθητικών νευρώνων και τις απολήξεις των απαγωγών υπερνωτιαίων νευρώνων (Piomelli et al., 2000- βλ. **Εικόνα 3**).



**Εικόνα 3: Εντόπιση & λειτουργικός πόλος των  $CB_1$**

**υποδοχέων στα σχετιζόμενα με τον πόνο μονοπάτια. (1) στις συνάψεις στο νωτιαίο μυελό, (2) στον εγκέφαλο στις περιοχές που σχετίζονται με την αντίληψη του πόνου (3) στις νωτιαίες συνάψεις (Από: Piomelli et al., 2000).**

Μέσω των δράσεων αυτών, το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών, φαίνεται ότι προκαλεί αναλγησία και αποτελεί το στόχο δράσης πολλών αναλγητικών φαρμάκων (Piomelli et al., 2000; Julien, 2003; Marzo, 2006; Παναγής & Καστελλάκης, 2006; Agarwal, Pacher, Tegeder, Amaya, Constantin, Brenner, Rubino, Michalski, Marsicano, Monory, Mackie, Marian, Batkai, Parolaro, Fischer, Reeh, Kunos, Kress, Lutz, Woolf & Kuner, 2007).

Έρευνες σε ζώα έχουν δείξει ότι τα κανναβινοειδή είναι αποτελεσματικά τόσο για τον οξύ πόνο (π.χ. βλαβερά θερμικά ερεθίσματα) όσο και για τον χρόνια πόνο (π.χ. νευροπαθητικός πόνος) (Amer, 2006). Στα διάφορα ζωικά πρότυπα έχει δειχθεί ότι τα κανναβινοειδή (ενδογενή και  $\Delta^9$ -THC), παρουσιάζουν την ίδια ισχύ και αποτελεσματικότητα με την μορφίνη. Επιπλέον, το ενδογενές σύστημα των κανναβινοειδών αλληλεπιδρά με αυτό των οπιοειδών και η μορφίνη και η  $\Delta^9$ -THC δρουν συνεργικά, ενισχύοντας η μία τις αναλγητικές ιδιότητες της άλλης (Παναγής & Καστελλάκης, 2006). Η αναλγητική αυτή δράση είναι δυνατό να αναστραφεί με την χορήγηση είτε του ανταγωνιστή των  $CB_1$  υποδοχέων SR141716A (Piomelli et al.,

2000), είτε με την χορήγηση του ανταγωνιστή των υποδοχέων των οπιοειδών ναλοξόνη. Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η αναλγητική δράση των κανναβινοειδών φαίνεται να είναι συγκρίσιμη με αυτή των 50-120mg κωδεΐνης, επεξηγώντας την τάση ανάπτυξης νέων συνθετικών κανναβινοειδών για την κλινική αντιμετώπιση του πόνου (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

Σήμερα γνωρίζουμε ότι η τοπική χορήγηση κανναβινοειδών θα μπορούσε να αποδειχθεί ένα αποτελεσματικό εργαλείο στην αντιμετώπιση της χρόνιας φλεγμονής ενώ ταυτόχρονα αποφεύγονται και οι ψυχοτρόποι ενέργειές τους (Fillipis, Russo, Stefano, Maiuri, Esposito, Cinelli, Pietropaolo, Carbuccion, Russo & Iuvone, 2007).

Είναι γνωστό ότι η ένεση φορμαλίνης εντός του πέλματος προκαλεί πόνο και αυξάνει την απελευθέρωση ανανταμιδίου εντός της περιϋδραγωγού φαιάς ουσίας. Το ενδεχόμενο λοιπόν ουσίες που αναστέλλουν την επαναπρόσληψη ή τον μεταβολισμό του ανανταμιδίου να έχουν αναλγητική δράση φαίνεται ότι παραμένει ανοιχτό. Καθώς μια τέτοια δράση δεν θα συνοδευόταν από άμεση διέγερση των CB<sub>1</sub> υποδοχέων θα ήταν δυνατή και η αποφυγή των ανεπιθύμητων ενεργειών (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

Η ναβιλόνη που είναι ένα συνθετικό κανναβινοειδές προερχόμενο από την κανναβινόλη κυκλοφορεί στον Καναδά ως αντιεμετικό για τους καρκινοπαθείς ασθενείς που υποφέρουν από ναυτία λόγω των χημειοθεραπειών. Έρευνες σε επίμυες έδειξαν ότι η ναβιλόνη έχει αντι-φλεγμονώδεις και αντι-υπεραλγικές δράσεις σε μοντέλο οξείας φλεγμονής. Έχει ακόμα βρεθεί ότι η ναβιλόνη έχει αναλγητικές και καταπραϋντικές ιδιότητες σε ασθενείς με χρόνια μη καρκινικό πόνο (Berlach, Shir & Ware, 2006).

Η θεραπεία του νευροπαθητικού πόνου αποτελεί μέχρι και σήμερα μια πρόκληση. Ο νευροπαθητικός πόνος συνήθως αντιμετωπίζεται με την χορήγηση αντιεπιληπτικών όπως η καρβαμαζεπίμη, αν και, οι ανεπιθύμητες ενέργειες της καρβαμαζεπίμης στο ΚΝΣ περιορίζουν της χρήσης της σε ένα ποσοστό ασθενών (Linang, Huang & Hsu, 2007). Τα κανναβινοειδή φαίνεται ότι είναι ικανά να κατευνάσουν τον νευροπαθητικό πόνο και συγκεκριμένα τα δύο κύρια χαρακτηριστικά του την αλλοδυνία (πόνος προκαλούμενος από μη επιβλαβή ερεθίσματα) και την υπεραλγησία (αυξημένη ευαισθησία στον πόνο προκαλούμενο από επιβλαβή ερεθίσματα) (Piomelli et al., 2000; Linang et al., 2007).

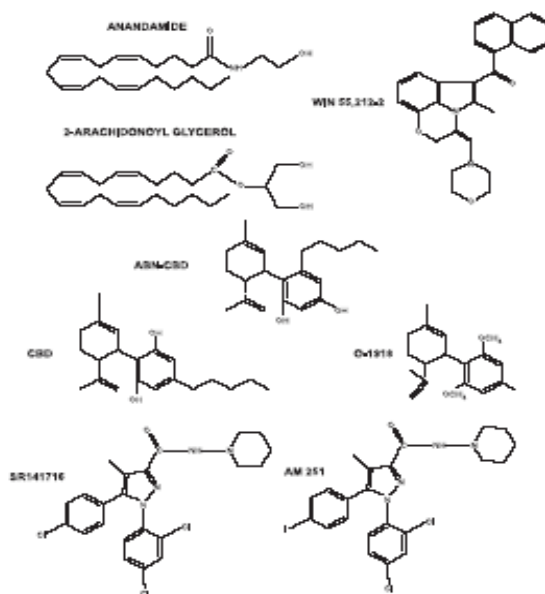
Σε μοντέλα νευροπαθητικού πόνου σε ζώα βρέθηκε ότι ο συνθετικός αγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων WIN55,212-2 εξασθενεί αυτή την απαντητικότητα σε δόσεις που δεν

προκαλούνται ανεπιθύμητες ενέργειες. Στο μοντέλο αυτό το SR141716A, συνθετικός ανταγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων μπλοκάρει τις αναλγητικές ιδιότητες του WIN55,212-2 και αυξάνει τις συμπεριφορές σχετιζόμενες με τον πόνο όταν αυτό χορηγείται μόνο του (Piomelli et al., 2000- βλ. **Εικόνα 4 & Εικόνα 5**).

	Receptor subtype*		Refs
	CB <sub>1</sub>	CB <sub>2</sub>	
Nonselective agonists	HU210 (tricyclic cannabinoid)		54
	CP55940 (bicyclic cannabinoid)		54
	WIN552122 (aminoalkylindole)		54
Selective agonists	Methanandamide	JWH015	55,56
	ACPA	L759633	57,58
	ACEA	L759656	57,58
		HU308	59
Selective antagonists	SR141716A	SR144528	60,61

**Εικόνα 4: Συνθετικά κανναβινοειδή**  
(Από: *Piomelli et al., 2000*).

Οι επιδράσεις του WIN55,212-2 (έπειτα από χορήγηση 15 ημερών) έχει βρεθεί ότι είναι δόσο-εξαρτώμενες (για τις δόσεις των 0.3, 1, 3 και 5 mg/kg) και σε άλλα μοντέλα ζώων όπου η λανθάνουσα περίοδος αντίδρασης στην θερμότητα εξαρτάται από την δόση του WIN55,212-2 που έχει χορηγηθεί. Στην έρευνα αυτή σημειώνεται επίσης ότι η χορήγηση του WIN55,212-2 δεν επέφερε αλλαγές στη θερμοκρασία των επίμυων στις δόσεις των 0.3, 1 και 3 mg/kg, ενώ φάνηκε ότι σε μεγαλύτερες δόσεις μια και μόνο χορήγηση είναι ικανή να μειώσει την θερμοκρασία του σώματος (Liang et al., 2007).



**Εικόνα 5: Χημική δομή ενδογενών & συνθετικών κανναβινοειδών**  
(Από: *Begg et al., 2005*).



Η σπαστικότητα αποτελεί το πιο δύσκολο στην αντιμετώπισή του σύμπτωμα στο 84% των ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση. Οι ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση αναφέρουν ότι η κάνναβη ανακουφίζει από τους σπασμούς και την σπαστικότητα που προκαλούνται από την ασθένειά τους (Robson, 2001; Collin, Davies, Mutiboko & Ratcliff, 2007). Το 15% των ασθενών με πολλαπλή σκλήρυνση χρησιμοποιούν την κάνναβη για την ανακούφιση των συμπτωμάτων της ασθένειάς τους. Τα δεδομένα μάλιστα αυτά στηρίζονται και από μελέτες σε ζώα όπου έχουν αναπτυχθεί συγκεκριμένα πειραματικά πρότυπα πολλαπλής σκλήρυνσης. Και αυτές οι δράσεις των κανναβινοειδών επιτελούνται μέσω των CB<sub>1</sub> υποδοχέων (Collin et al., 2007). Θα πρέπει να αναφερθεί ότι το 17% των κανναβινοειδών που μελετώνται έχουν αναπτυχθεί για την αντιμετώπιση της πολλαπλής σκλήρυνσης (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

## **B. Λήψη Τροφής**

Όλο και περισσότερα στοιχεία υποστηρίζουν την υπόθεση ότι τα κανναβινοειδή έχουν την ικανότητα να ρυθμίζουν συμπεριφορές σχετιζόμενες με την ομοίωση των οργανισμών συμπεριλαμβανομένης της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς και της λήψης τροφής (Jarbe & DiPatrizio, 2005; Ho, Cox & Wagner, 2007).

Η ορεξιογόνος ιδιότητα της κάνναβης θεωρείται πλέον αποδεκτή καθώς έχει επιβεβαιωθεί τόσο από τις αυτοαναφορές χρηστών όσο και μέσω εργαστηριακών ελέγχων (Robson, 2001; Ho et al., 2007). Κλινικές μελέτες απέδειξαν ότι η δροναβινόλη, η οποία αποτελεί μια συνθετική μορφή της Δ<sup>9</sup>-THC παρουσιάζει ευεργετική δράση στην αύξηση της όρεξης και του βάρους σε ασθενείς με σύνδρομο AIDS (Amer, 2006). Μάλιστα, αυτή αποτελεί μια από τις αποδεκτές πλέον εφαρμογές της κάνναβης τόσο στις Η.Π.Α. όσο και σε ορισμένες χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Φαίνεται ότι η εφαρμογή αυτή θα μπορούσε να θεωρηθεί αποτελεσματική και σε άλλες ανάλογες περιπτώσεις όπως για παράδειγμα στους καρκινοπαθείς όπου σε διάφορες κλινικές δοκιμές έχει επίσης παρατηρηθεί αύξηση της όρεξης και του σωματικού βάρους (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

Διάφορα ερευνητικά δεδομένα υποδεικνύουν ότι τα ενδογενή κανναβινοειδή συμμετέχουν στο κύκλωμα που ελέγχει πόσο και πότε τρώμε. Το ανανταμίδιο διεγείρει την λήψη τροφής μέσω των CB υποδοχέων (Williams & Kirkham, 1999) ενώ ο εκλεκτικός ανταγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων SR141716A φαίνεται ότι αναστέλλει την δράση αυτή. Επιπροσθέτως, η χορήγηση SR141716A από μόνη της προκαλεί

καταστολή της όρεξης και συνακόλουθη μείωση του βάρους. Λόγω της δράσης του αυτής, το SR141716A (ριμοναμπάντη) κυκλοφορεί ήδη στην αγορά για την καταπολέμηση της παχυσαρκίας. Γίνεται λοιπόν σαφές ότι αλλαγές στο ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών είναι ικανές να προκαλέσουν τόσο την αύξηση όσο και την μείωση της λήψης τροφής (Doqqrell, 2005).

Έρευνες σε επίμυες έδειξαν ότι η χορήγηση  $\Delta^9$ -THC οδηγεί σε υπερφαγία έπειτα από χρόνια χορήγηση. Φαίνεται ότι η χορήγηση  $\Delta^9$ -THC οδηγεί σε αυξημένη κατανάλωση τροφής ιδιαιτέρως των «εύγευστων» τροφών τόσο στον άνθρωπο όσο και σε πειραματόζωα (Williams, Rogers & Kirkham, 1998; Jarbe & DiPatrizio, 2005).

### **Γ. Κινητική Δραστηριότητα**

Τα κανναβινοειδή έχουν συσχετιστεί και με τον συντονισμό της κίνησης. Προγενέστερα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η  $\Delta^9$ -THC και το WIN 55,212-2 προκαλούν δοσο-εξαρτώμενες αλλαγές στην κινητική δραστηριότητα (Drews, Schneider & Koch, 2005; Singh et al., 2005). Η ερευνητική ομάδα του Sigh και των συνεργατών του (2005) αναφέρει ότι η οξεία χορήγηση  $\Delta^9$ -THC όχι απλά δεν αυξάνει την κινητική δραστηριότητα αλλά προκαλεί και την μείωσή της με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο, ενώ επίσης δοσο-εξαρτώμενα αναπτύσσεται ανοχή στις κινητικές επιδράσεις της  $\Delta^9$ -THC (Romero et al, 1997; Sigh et al., 2005). Στις χαμηλότερες δόσεις φαίνεται ότι τόσο η  $\Delta^9$ -THC όσο και το WIN55,212 είναι σε θέση να προκαλέσει υπερκινητικότητα ενώ σε υψηλότερες δόσεις προκαλεί υποκινητικότητα (Pandolfo, Pamplona, Prediger & Takahashi, 2007; Varvel et al., 2007). Παρ' όλα αυτά, τα ευρήματα προηγούμενων ερευνών φαίνεται να είναι αντικρουόμενα. Σύμφωνα με την Drews και τους συνεργάτες της (2005) οξείες δόσεις μέχρι των 0,6 mg/3ml, αλλά όχι μεγαλύτερες, προκαλούν υπερκινητικότητα (Drews et al., 2005). Θα πρέπει να επισημάνουμε ότι το πρωτόκολλό αυτό περιλάμβανε μέτρηση 35 λεπτών ενώ στην παρούσα μελέτη η κινητική συμπεριφορά μετρήθηκε για 60 λεπτά.

Σύμφωνα με μια πρόσφατη έρευνα (Pandolfo et al., 2007), το WIN55,212-2 σε δόσεις από 0.25 έως 1.12 mg/kg προκαλεί διέγερση της κινητικής δραστηριότητας σε έφηβους αλλά όχι σε ενήλικες αρουραίους σε μοντέλο υπερκινητικής διαταραχής. Στις μεγαλύτερες δόσεις, το WIN55,212 βρέθηκε ότι μειώνει την κινητική δραστηριότητα. Η επίδραση αυτή του WIN55,212-2 στην κινητική δραστηριότητα είναι δυνατό να αντιστραφεί με την χορήγηση του  $CB_1$  ανταγωνιστή AM 251. Η έρευνα αυτή υποστηρίζει ότι οι δράσεις αυτές του WIN55,212-2 είναι εξαρτημένες τόσο από το

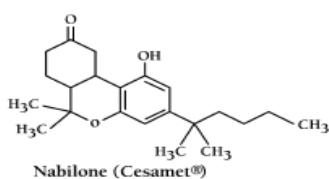
είδος του επίμυ όσο και από την ηλικία (Pandolfo et al., 2007). Οι επιδράσεις της Δ<sup>9</sup>-THC στην κινητική δραστηριότητα φαίνεται ότι είναι μειωμένες σε έφηβους επίμυες συγκριτικά με τους ενήλικες (Schramm-Sapyta, Cha, Chaudry, Wilson, Swartwelder & Kuhn, 2007).

Η αύξηση της δραστηριότητας του μεταίχμιακού ντοπαμινεργικού συστήματος σχετίζεται με την αυξημένη κινητική δραστηριότητα σε επίμυες. Επιπλέον, η δράση αυτή στην κινητική δραστηριότητα φαίνεται να αυξάνεται έπειτα από την επαναλαμβανόμενη χορήγηση ουσιών που αυξάνουν την ντοπαμινεργική δραστηριότητα.. Αυξημένη κινητική δραστηριότητα έχει βρεθεί έπειτα από την χορήγηση κοκαΐνης, αμφεταμίνης, μεθυλφαινιδάτης, μορφίνης, φαινκυκλιδίνης, MDMA, νικοτίνης και αιθανόλης, υποδεικνύοντας ένα κοινό βιολογικό υπόστρωμα (Varvel, Martin & Lichtman, 2007). Έρευνες σε επίμυες υποδεικνύουν ότι η έκθεση στα κανναβινοειδή αυξάνει τις επιδράσεις άλλων ψυχοτρόπων ουσιών, όπως τα οπιοειδή, στην κινητική ενεργοποίηση σε μετρήσεις διασταυρούμενης ευαισθητοποίησης. Η έκθεση σε Δ<sup>9</sup>-THC ή WIN55,212-2 έχει βρεθεί ότι αυξάνει την προκαλούμενη από την ηρωίνη κινητική δραστηριότητα (Lamarque et al., 2001 βλ. Singh et al., 2005).

#### **Δ. Ναυτία και Έμετος**

Η ικανότητα των κανναβινοειδών να αντιμετωπίζουν την ναυτία και τον έμετο αποτελεί την πλέον καλά μελετημένη θεραπευτική δράση των κανναβινοειδών με άμεση εφαρμογή στους καρκινοπαθείς που ταλαιπωρούνται από τις ανεπιθύμητες ενέργειες της χημειοθεραπείας (Robson, 2001; Amer, 2006; Jordan, Schmoll & Aapro, 2007 ).

Έρευνες σε ζώα υποδεικνύουν ότι οι CB<sub>1</sub> υποδοχείς διαμεσολαβούν στις αντιεμετικές δράσεις των κανναβινοειδών και οι CB<sub>1</sub> ανταγωνιστές προκαλούν έμετο ο οποίος αναστέλλεται με την χορήγηση κανναβινοειδών. Μερικές χώρες, συμπεριλαμβανομένης της Αγγλίας έχουν ήδη εγκρίνει την χρήση δροναβινόλης και ναβιλόνης ως αντιεμετικά (Amer, 2006). Τα παιδιά φαίνεται ότι ανταποκρίνονται θετικά στις αντι-εμετικές δράσεις της ναβιλόνης ενώ παρουσιάζουν αντοχή στις παρενέργειες της (βλ. **Εικόνα 6**). Ασφαλώς όμως απαιτείται περαιτέρω έρευνα για τον ευαίσθητο αυτό πληθυσμό (Robson, 2001). Παρ' όλα αυτά, οι ανεπιθύμητες ενέργειες των εν λόγω ουσιών καθιστούν την χρήση τους προβληματική ιδιαίτερος για τους ενήλικες (Amer, 2006; Παναγής & Καστελλάκης, 2006).



**Εικόνα 6: Χημική δομή ναβιλόνης**  
(Από: Amer, 2006).

## **Ε. Νευροπροστασία**

Τα κανναβινοειδή φαίνεται να έχουν νευροπροστατευτικές δράσεις (Jackson, Diemel, Pryce, Baker, 2005; Ramirez, Blazquez, Gomez del Pulgar, Guzman & Ceballos, 2005; Fernandez-Lopez, Pazos, Tolon, Moro, Romero, Lizasoain & Martinez-Orgado, 2007; Galve-Roperh et al., 2007) και την ιδιότητα να επιβραδύνουν την εξέλιξη νευροεκφυλιστικών διαταραχών (Ramirez et al., 2005). Νευροπροστατευτικές δράσεις φαίνεται ότι έχουν και τα ενδογενή κανναβινοειδή (Fernández-López, Martínez-Orgado, Nuñez, Romero, Lorenzo, Moro & Lizasoain, 2006) καθώς και η Δ<sup>9</sup>-THC. Η απώλεια των CB<sub>1</sub> υποδοχέων στην ωχρά σφαίρα, το ραβδωτό σώμα και την μέλαινα ουσία φαίνεται ότι σχετίζεται με την παρουσία των πρώτων συμπτωμάτων της χορείας Huntington υποδεικνύοντας την ενδεχόμενη ύπαρξη αλλαγών στο ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών πριν την ανάπτυξη σημαντικής παθολογίας της εν λόγω διαταραχής.

Η νευροπροστατευτική δράση των κανναβινοειδών πιθανώς να οφείλεται στις αντιοξειδωτικές δράσεις τους. Εάν η υπόθεση αυτή είναι σωστή, τότε πιθανώς τα κανναβινοειδή να μπορούν να εμποδίζουν τον κυτταρικό θάνατο σε διάφορες κινητικές διαταραχές και ιδίως στη χορεία Huntington η οποία χαρακτηρίζεται από την παραγωγή ελεύθερων ριζών.

Επιπλέον, οι NMDA υποδοχείς φαίνεται ότι σχετίζονται με την κυτταροτοξικότητα ενώ τα κανναβινοειδή έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση μέσω των NMDA υποδοχέων (Lastres-Becker, Bizat, Boyer, Hantraye, Brouillet & Fernández-Ruiz, 2003). Η δεξαναβιλόνη (HU-211), αποτελεί ένα νέο κανναβινοειδές το οποίο δρα ως μη συναγωνιστικός ανταγωνιστής των NMDA υποδοχέων και όχι στους CB<sub>1</sub> υποδοχείς. Χάρη στο μηχανισμό αυτό δράσης της η δεξαναβιλόνη έχει ισχυρές αντιοξειδωτικές δράσεις και αναμένεται να έχει νευροπροστατευτικές ιδιότητες. Κλινικές δοκιμές μάλιστα έδειξαν ότι η δεξαναβιλόνη

είναι αποτελεσματική για την αντιμετώπιση ισχαιμίας (Leker, Mechoulam & Ovadia, 2003; Molina-Holgado, Pinteaux, Heenan, Moore, Rothwell & Gibson, 2005; Hayakawa, Mishima, Nozako, Ogata, Hazekawa, Liu, Fujioka, Abe, Hasebe, Egashira, Iwasaki, Fujiwara, 2007). Η χορήγηση του WIN55,212-2 φαίνεται ότι μειώνει την εγκεφαλική βλάβη στον υπόκαμπο και τον εγκεφαλικό φλοιό σε ορισμένα πρότυπα πρόκλησης ισχαιμίας (Fernandez-Lopez et al., 2007).

Από μια άλλη οπτική φαίνεται ότι η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων του συστήματος των κανναβινοειδών με το χολινεργικό σύστημα θα μπορούσε να βοηθήσει στην αξιοποίηση της αντιχολινεστεράσης στην φαρμακοθεραπεία για τη νόσο Alzheimer. Φαίνεται ότι τόσο η αντιχολινεστεράση όσο και τα κανναβινοειδή ρυθμίζουν την έκκριση ακετυλοχολίνης στον υπόκαμπο (Nallapaneni, Liu, Karanth & Pope, 2006).

### **ΣΤ. Ενίσχυση και Εξάρτηση**

Οι ενισχυτικές ιδιότητες της κάνναβης και των λοιπών κανναβινοειδών έχουν αμφισβητηθεί κατά καιρούς από πολλούς ερευνητές (Muschamp & Sivity, 2002; Παναγής & Καστελλάκης, 2006; Varvel, Martin & Lichtman, 2007). Μάλιστα, ενδιαφέρον είναι ότι αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η  $\Delta^9$ -THC και τα συνθετικά ανάλογα των κανναβινοειδών παρουσιάζουν δυσφορικές δράσεις (Παναγής & Καστελλάκης, 2006). Αντίθετα, όπως γνωρίζουμε, οι περισσότερες ψυχοτρόποι ουσίες που χρησιμοποιούνται από τον άνθρωπο παρουσιάζουν ενισχυτικές ικανότητες σε συμπεριφορικά μοντέλα ζώων. Παρ' όλα αυτά, τα κανναβινοειδή παραδοσιακά παρουσιάζουν μια άτυπη εικόνα σε σχέση με τις υπόλοιπες εξαρτησιογόνους ουσίες καθώς αποτυγχάνουν να επιδείξουν ενισχυτική δράση σε κλασικές δοκιμασίες ενίσχυσης και ανταμοιβής όπως ο ενδοκρανιακός αυτοερεθισμός, η εξαρτημένη προτίμηση θέσης και η αυτο-χορήγηση ουσιών (Harris et al., 1974; Leite & Carlini, 1974; Wu & French, 2000; Muschamp & Sivity, 2002; Robinson, Hinder, Pertwee, Riedel, 2003; Vlachou, Nomikos & Panagis, 2003; Vlachou, Nomikos, Stephens & Panagis, 2007).

Πιο συγκεκριμένα, τα ερευνητικά δεδομένα από μελέτες σε ζώα φαίνεται να είναι αντικρουόμενα. Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι τα πειραματόζωα δεν αυτοχορηγούν κανναβινοειδή, καθώς και ότι τα κανναβινοειδή δεν προκαλούν εξαρτημένη προτίμηση θέσης (Robinson et al., 2003) και δεν μειώνουν τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (Muschamp & Sivity, 2002; Vlachou et al., 2007). Στον

αντίποδα υπάρχει μια σειρά ερευνών που υποστηρίζει το αντίθετο (Gardner, 2002; Maldonado, 2002; Maldonado & Fonseca, 2002; Tanda & Goldberg, 2003; Fadda, Scherma, Spano, Salis, Melis, Fattore, Fratta, 2006; Kolb et al., 2006; Varvel et al., 2007).

Η πειραματική διάταξη του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού βασίζεται στις αρχές της συντελεστικής μάθησης και χρησιμοποιείται ευρύτατα για την μελέτη των ενισχυτικών ιδιοτήτων διαφόρων φαρμάκων (Παναγής, 2002b). Καθώς στην έρευνα αυτή εξετάσαμε τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης κανναβινοειδών με το συγκεκριμένο πρότυπο, θα γίνει διεξοδική παρουσίασή του σε επόμενη ενότητα (βλ. **Μεθοδολογία: Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού**).

Προγενέστερες μελέτες με το πρότυπο αυτό έχουν δείξει ότι η χορήγηση  $\Delta^9$ -THC στη δόση του 1.5mg/kg έχει ενισχυτικές ιδιότητες καθώς η χορήγησή της μείωσε τον ουδό του ενδοκρανιακού ερεθισμού (Gardner, Paredes, Smith, Donner, Milling, Cohen & Morrison, 1988). Το 1996, ο Lepore και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι η χορήγηση 1mg/kg  $\Delta^9$ -THC μείωσε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε Lewis επίμυες αλλά δεν βρέθηκε ανάλογη μείωση σε Sprague-Dawley και Fischer 344 επίμυες (Lepore, Liu, Savage, Matalon & Gardner, 1996). Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι Lewis επίμυες χαρακτηρίζονται από αυξημένη ευαισθησία στις εθιστικές ουσίες και ροπή προς εθιστικές συμπεριφορές (Flores, Wood, Barbeau, Quiron & Srivastata, 1998).

Στον αντίποδα, κινούνται τα ευρήματα μιας σειρά μελετών που εξέτασαν την επίδραση ποικίλων κανναβινοειδών στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού. Σε πρόσφατη έρευνα η Vlachou και οι συνεργάτες της (2003), έδειξαν ότι ο αγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων WIN55,212-2 σε χαμηλές δόσεις δεν επηρεάζει την ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού (Vlachou et al., 2003). Ανάλογα είναι τα ευρήματα και άλλων μελετών έπειτα από την χορήγηση  $\Delta^9$ -THC αλλά και άλλων αγωνιστών καθώς και ρυθμιστών των υποδοχέων των κανναβινοειδών (Arnold, Hunt & Mc Gregor, 2001; Vlachou et al., 2005; 2006; Antoniou, Galanopoulos, Vlachou, Kourouli, Nahmias, Thermos, Panagis, Daifoti, Marselos, Papahatjis, Spyragi, 2005). Στις μελέτες αυτές έχειδειχτεί ότι χαμηλές δόσεις των κανναβινοειδών δεν έχουν ενισχυτική δράση, ενώ μεγαλύτερες αυξάνουν τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού προκαλώντας ανηδονία.

Το πρότυπο της εξαρτημένης χορήγησης θέσης βασίζεται στις αρχές της κλασικής εξαρτημένης μάθησης και χρησιμοποιείται για την μελέτη των ενισχυτικών ιδιοτήτων τόσο φαρμάκων όσο και άλλων ερεθισμάτων όπως η τροφή ή ο ηλεκτρικός ερεθισμός. Στο πρότυπο αυτό χρησιμοποιείται κλωβός που αποτελείται από δύο διακριτά διαμερίσματα, ενώ το πειραματόζωο εκτίθεται σε ένα από τα δύο διαμερίσματα σε συνδυασμό με ένα ερέθισμα (π.χ. ευφοριογόνο φάρμακο), ενώ στο άλλο διαμέρισμα δεν λαμβάνει το ερέθισμα (π.χ. δέχεται έκδοχο). Καθώς στη συνέχεια το ζώο αφήνεται ελεύθερο να κινηθεί στα δύο διαμερίσματα, υπολογίζεται ο χρόνος παραμονής του στο εκάστοτε διαμέρισμα του κλωβού. Ο χρόνος παραμονής στο διαμέρισμα που είχε συνδυαστεί με το ερέθισμα καθορίζει την προτίμησή του ή μη για το εν λόγω ερέθισμα (Παναγής, 2002b).

Χρησιμοποιώντας το πρότυπο αυτό, η έρευνα του Robinson και των συνεργατών του (2003), έδειξε ότι τόσο η  $\Delta^9$ -THC όσο και το WIN55,212-2 δεν προκαλούν εξαρτημένη προτίμηση θέσης (Robinson et al., 2003). Ανάλογα είναι τα ευρήματα και άλλων μελετών (Vlachou et al., 2007). Επιπλέον, παλιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση  $\Delta^9$ -THC έχει δυσφορική δράση και προκαλεί εξαρτημένη αποστροφή θέσης (Mallet & Beninger, 1998). Εξαρτημένη αποστροφή θέσης έχει βρεθεί ότι προκαλεί και το WIN55,212-2 σε δόσεις από 0.3mg/kg μέχρι και 1mg/kg (Chaperon, Soubrie, Puech & Thiebot, 1998) αλλά και οι άλλοι αγωνιστές των  $CB_1$  υποδοχέων, όπως το HU-210. Στην έρευνα των Cheer και των συνεργατών του (2000), η ριμοναμπάντη προκάλεσε εξαρτημένη προτίμηση θέσης υποδεικνύοντας ότι το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών σχετίζεται με τη μείωση της ενίσχυσης και την προκαλούμενη από τα κανναβινοειδή εξαρτημένη αποστροφή θέσης (Cheer, Kendall & Marsden, 2000).

Σύμφωνα με τον Lepore και τους συνεργάτες του (1995), η ικανότητα της  $\Delta^9$ -THC και των αγωνιστών υποδοχέων των κανναβινοειδών να προκαλούν εξαρτημένη προτίμηση θέσης εξαρτάται τόσο από την δόση όσο και από τον χρόνο χορήγησής της. Μάλιστα στην δόση του 1mg/kg η  $\Delta^9$ -THC φαίνεται ότι προκάλεσε εξαρτημένη αποστροφή θέσης (Lepore, 1995). Εξαρτημένη αποστροφή θέσης βρέθηκε στις δράσεις των 5mg/kg  $\Delta^9$ -THC από τους Valjent & Maldonado (2000). Ενώ στην έρευνα αυτή φάνηκε ότι το 1mg/kg δεν είχε καμία επίδραση στο πρότυπο εξαρτημένης χορήγησης φαρμάκων.

Το πρότυπο της αυτοχορήγησης φαρμάκων, βασίζεται επίσης στις αρχές της συντελεστικής μάθησης και αποτελεί το πλέον χρήσιμο «εργαλείο» για την μελέτη των ευφοριογόνων ιδιοτήτων των ψυχοτρόπων ουσιών. Το πειραματόζωο πιέζοντας ένα μοχλό ενισχύεται με την ενδοφλέβια ή ενδοεγκεφαλική χορήγηση ενός φαρμάκου. Σε γενικές γραμμές, τα φάρμακα που αυτοχορηγούν τα πειραματόζωα αποτελούν και αντικείμενο κατάχρησης για τον άνθρωπο (Παναγής, 2002b).

Έπειτα από πολλές αποτυχίες στην προσπάθεια εύρεσης ενός πρωτοκόλλου αυτοχορήγησης κανναβινοειδών (Harris et al., 1974), η πρώτη επιτυχημένη προσπάθεια αυτοχορήγησης έγινε μετά την πρόκληση φυσικής εξάρτησης στα κανναβινοειδή (Deneau & Kaymakcalan, 1971) ή μετά από την έκθεση σε κοκαΐνη (Tanda et al., 2000) ή την περιορισμένη πρόσβαση σε τροφή (Fattore, Cossu, Martellotta & Fratta, 2001).

Έρευνες σε τρωκτικά έχουν δείξει ότι δεν αυτοχορηγούν συστηματικά  $\Delta^9$ -THC, αν και στη βιβλιογραφία υπάρχουν έρευνες που καταδεικνύουν την αυτοχορήγηση αγωνιστών των  $CB_1$  υποδοχέων όπως το WIN55,212-2 και το HU-210 (Navarro, Carrera, Fratta, Valverde, Cossu, Fattore, Chowen, Gomez, Arco, Villanua, Maldonado, Koob & Rodriguez de Fonseca, 2001). Οι πειραματικές διαδικασίες όμως που ακολουθήθηκαν και σε αυτή την περίπτωση δεν επιτρέπουν τη γενίκευση των αποτελεσμάτων. Μια άλλη έρευνα σε μύες έδειξε ότι το WIN55,212-2 αυτοχορηγήθηκε ενδοφλεβίως στη δόση του 0.1mg/kg αλλά στη δόση του 0.5mg/kg η αυτοχορήγηση μειώθηκε (Martellotta, Cossu, Fattore, Gessa & Fratta, 1998).

Η μόνη μελέτη που έχει δείξει, αν και σε περιορισμένο αριθμό παρθένων σε εξαρτησιογόνους ουσίες πιθήκους, ενδοφλέβια αυτοχορήγηση της  $\Delta^9$ -THC είναι αυτή της Justinova και των συνεργατών της (Justinova, Tanda & Redhi, Goldberg, 2003). Στη μελέτη αυτή οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν μικρότερη δόση  $\Delta^9$ -THC, σε σχέση με αυτή που χρησιμοποιούσαν άλλες μελέτες και διαφορετικό μέσο διάλυσης που είχε ως αποτέλεσμα ταχύτατη αυτοχορήγηση. Η ίδια ερευνητική ομάδα σε μια πρόσφατη μελέτη με πιθήκους έδειξε ενδοφλέβια αυτοχορήγηση ενός συνθετικού αναλόγου του ανανταμιδίου, του μεθυλοανανταμιδίου. Οι δράσεις του μεθυλοανανταμιδίου πραγματοποιήθηκαν μέσω των  $CB_1$  υποδοχέων καθώς η συμπεριφορά αυτοχορήγησης μειώθηκε σημαντικά έπειτα από την χορήγηση ανταγωνιστή των  $CB_1$  υποδοχέων (Justinova, Solinas, Tanda, Redhi & Goldberg, 2005).

Τέλος, πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι οι επίμυες αυτοχορηγούν ενδοεγκεφαλικά μικροεγχύσεις  $\Delta^9$ -THC στο οπίσθιο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και στο κέλυφος του



επικλινούς πυρήνα. Στον αντίποδα, αυτοχορήγηση δεν παρατηρήθηκε στον κορμό του επικλινούς πυρήνα και στο ραχιαίο και πρόσθιο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (Zangen, Solinas, Ikemoto, Goldberg & Wise, 2006).

Σύμφωνα με μελέτες, το 4% των χρηστών της κάνναβης αναπτύσσει το λεγόμενο Σύνδρομο Εξάρτησης από Κάνναβη, με βάση το DSM-IV (Varvel et al., 2007). Σε πολλές περιπτώσεις αναπτύσσεται σωματική εξάρτηση στους χρόνιους χρήστες κάνναβης, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στο στερητικό σύνδρομο -έπειτα από την αποχή από την ουσία- χαρακτηριζόμενο από αναζήτηση της ουσίας, άγχος, καταθλιπτική διάθεση, γνωστικά ελλείμματα, νευρικότητα, ευερεθιστότητα, διαταραχές ύπνου, αλλαγές στη διάθεση και το βάρος και γαστρεντερικά προβλήματα (Varvel et al., 2007). Το σύνδρομο αυτό όμως είναι πολύ ήπιο και σε καμία περίπτωση δεν συγκρίνεται με αυτό άλλων εξαρτησιογόνων ουσιών.

Στα πειραματόζωα δεν υπάρχουν προς το παρόν πειστικές ενδείξεις για το ότι αναπτύσσουν εξάρτηση και εκδηλώνουν αυθόρμητο σύνδρομο στέρησης μετά από χρόνια χορήγηση κανναβινοειδών. Οι μελέτες που έχουν δείξει κάτι τέτοιο υιοθέτησαν το πρωτόκολλο του προκαλούμενου από ανταγωνιστή σύνδρομο στέρησης και υπερβολικά μεγάλες δόσεις κανναβινοειδών που δεν μπορούν να συγκριθούν με αυτές που αυτοχορηγεί ο άνθρωπος με το κάπνισμα μαριχουάνας (Lichtman & Martin, 2002).

## **Z. Αντιεπιληπτικές Δράσεις**

Φαίνεται ότι γενικότερα τα κανναβινοειδή και ειδικότερα η  $\Delta^9$ -THC και η κανναβιδιόλη παρουσιάζουν αντιεπιληπτικές δράσεις (Gordon & Devinsky, 2001; Wallace, Falenski, Martin & Delorenzo, 2003; Alger, 2004). Άλλοι ερευνητές έδειξαν ότι όχι μόνο η  $\Delta^9$ -THC αλλά και ο  $CB_1$  αγωνιστής WIN55,212-2 παρουσιάζει αντιεπιληπτικές δράσεις (Wallace et al., 2003). Επίσης, το θεωρούμενο ως ενδογενές κανναβινοειδές ν-παλμιτοϊλαιθανολαμίδιο έχει βρεθεί ότι έχει αντιεπιληπτικές ιδιότητες, αν και δεν μπορεί να σταματήσει την επιληπτική κρίση (Sheerin, Zhang, Saucier & Corcoran, 2004).

Η χορήγηση καϊνικού οξέος, ενός αγωνιστή του γλουταμινικού προκαλεί επιληπτικούς σπασμούς και οδηγεί στην συνακόλουθη αύξηση των επιπέδων του ανανταμιδίου στον ιππόκαμπο όπως έχει δείχθει σε έρευνες σε μύες. Επιπλέον,

ποντίκια που δεν εξέφραζαν τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς παρουσίαζαν σοβαρότερους επιληπτικούς σπασμούς συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Η ενεργοποίηση των CB<sub>1</sub> υποδοχέων από τους επιληπτικούς σπασμούς προκαλεί την έκκριση ενδογενών κανναβινοειδών τα οποία δρουν νευροπροστατευτικά. Επιπροσθέτως, και η χορήγηση εξωγενών κανναβινοειδών μπορεί να έχει εξίσου νευροπροστατευτικές επιδράσεις (Alger, 2004).

## **H. Άγχος**

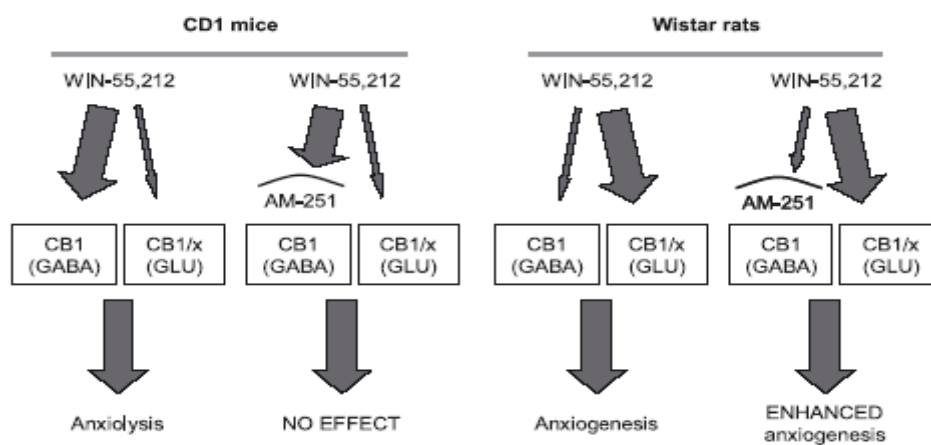
Μία από τις κύριες δράσεις της μαριχουάνας έπειτα από οξεία χρήση είναι η πρόκληση άγχους ή ακόμα και κρίσεως πανικού (Rodgers, Evans & Murphy, 2005; Schramm-Sapyta, Cha, Chaudry, Wilson, Swartwelder & Kuhn, 2007).

Η ναβιλόνη καθώς και διάφοροι ρυθμιστές του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών φαίνεται ότι παρουσιάζουν αγχολυτικές ιδιότητες (Robson, 2001). Οι δράσεις των αγωνιστών των κανναβινοειδών συχνά παρουσιάζονται πολύπλοκες και αντικρουόμενες όπως φαίνεται από μελέτες στον άνθρωπο και σε ζώα. Μάλιστα φαίνεται ότι παρουσιάζουν και δοσο-εξαρτώμενες δράσεις καθώς σε χαμηλές δόσεις έχουν αγχολυτικές ιδιότητες ενώ στις υψηλότερες δόσεις προκαλούν άγχος (Rodgers et al., 2005).

Η κανναβιδιόλη φαίνεται ότι επίσης ότι παρουσιάζει αγχολυτικές δράσεις παρόμοιες με αυτές της διαζεπάμης ενώ επίσης φαίνεται να εξασθενεί τις αγχογόνους ιδιότητες της Δ<sup>9</sup>-THC. Παρ' όλα αυτά, ο μηχανισμός δράσης της κανναβιδιόλης παραμένει άγνωστος καθώς λόγω της χαμηλής συγγένειας της με τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς, οι δράσεις αυτές φαίνεται να οφείλονται σε κάποιο άλλο μηχανισμό (Moreira, Aguiar & Guimarães, 2006). Έρευνες έδειξαν ότι οι αγχογόνοι επιδράσεις της Δ<sup>9</sup>-THC είναι μεγαλύτερες σε ενήλικες παρά σε «έφηβους» επίμυες. Το εύρημα μάλιστα αυτό συσχετίστηκε με την μειωμένη χρήση μαριχουάνας από τους ενήλικες συγκριτικά με τους εφήβους (Schramm-Sapyta et al., 2007).

Έρευνες σε μύες που δεν εκφράζουν τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς έδειξαν ότι παρουσιάζουν συμπεριφορές που υποδηλώνουν άγχος και κατάθλιψη καθώς επίσης χαρακτηρίζονται από μεταβολές στη λειτουργία του άξονα Υποθάλαμος-Υπόφυση-Φλοιός των Επινεφριδίων (Παναγής & Καστελάκης, 2006). Ακόμα, φαρμακολογικός αποκλεισμός των CB<sub>1</sub> υποδοχέων έπειτα από την χορήγηση CB<sub>1</sub> ανταγωνιστών φαίνεται ότι έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση άγχους σε πειραματόζωα (Rodgers et al., 2005).

Άλλες έρευνες σε ζώα έχουν δείξει ότι ο αποκλεισμός του ενζύμου που αποδομεί το ανανταμίδιο έχει αγχολυτική δράση στα πειραματόζωα (Gaetani, Cuomo & Piomelli, 2003). Ο ισχυρότερος όμως σύνδεσμος μεταξύ άγχους και κανναβινοειδών φαίνεται ότι ανευρίσκεται στους CB<sub>1</sub> υποδοχείς στον ιππόκαμπο και την αμυγδαλή. Επίμυες που δεν εκφράζουν τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς δεν παρουσιάζουν καμία επίδραση στις σχετικές με το άγχος συμπεριφορές έπειτα από την χορήγηση είτε αγωνιστών (WIN55,212-2) είτε ανταγωνιστών (AM-251) (Haller, Varga & Freund, 2004). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι το WIN55,212-2 μειώνει το άγχος σε μύες ενώ το AM-251 αυξάνει το άγχος. Επιπροσθέτως φαίνεται ότι ο ανταγωνιστής καταργεί τις δράσεις του αγωνιστή. Τα ευρήματα αυτά όμως φαίνεται να αντιστρέφονται στους επίμυες όπου το WIN55,212-2 φαίνεται ότι αυξάνει το άγχος ενώ φαίνεται ότι και ο ανταγωνιστής ενισχύει την δράση αυτή (Haller, Matyas, Soproni, Varga, Barsy, Nemeth, Mikics, Freud & Hajos, 2007- βλ. **Εικόνα 7**). Όλα τα παραπάνω ευρήματα υποδεικνύουν ότι, το ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών θα μπορούσε να αποτελέσει στόχο δράσης αγχολυτικών φαρμάκων (Haller et al., 2004; Haller et al., 2007).



**Εικόνα 7: Διαφορετικές επιδράσεις του WIN55,212-2 αναφορικά με το άγχος σε μύες και επίμυες (Από: Haller et al., 2007).**

### Θ. Γνωστικές Λειτουργίες-Μνήμη

Από τις σημαντικότερες επιδράσεις την μαριχουάνας στον άνθρωπο φαίνεται ότι είναι η διαταραχή της μνήμης (Lawston, Borella, Robinson & Whitaker-Azmitia, 2000; Julien, 2003; Cravatt & Lichtman, 2004; Arenos, Musty & Bucci, 2006; Fernandez-Lopez et al., 2007) που οφείλεται στη μειωμένη δραστηριότητα του ιπποκάμπου, ο

οποίος περιέχει μεγάλο αριθμό CB υποδοχέων (Lawston et al., 2000; Arenos et al., 2006). Η μαριχουάνα φαίνεται ότι προκαλεί αλλαγές στις γνωστικές διαδικασίες και ιδιαιτέρως στη βραχυπρόθεσμη μνήμη και στη μάθηση. Η χρόνια χρήση κάνναβης φαίνεται ότι οδηγεί σε μακροπρόθεσμες αλλαγές στη συνείδηση και μειωμένη δραστηριότητα των κροταφικών λοβών (Lawston et al., 2000).

Από την χορήγηση  $\Delta^9$ -THC φαίνεται να επηρεάζονται τόσο η κωδικοποίηση όσο και οι διεργασίες ανάκλησης. Η χορήγηση ανταγωνιστών των CB υποδοχέων οδηγεί σε υποχώρηση των διαταραχών της μνήμης. Το εύρημα αυτό υποστηρίζει την υπόθεση ότι οι διαταραχές της μνήμης οφείλονται σε δράσεις των κανναβινοειδών επί των CB υποδοχέων και όχι σε κάποιον έμμεσο μηχανισμό (Julien, 2003).

Τα κανναβινοειδή παρεμποδίζουν την μάθηση και τη μνήμη και στα πειραματόζωα. (Lawston, Borella, Robinson & Whitaker-Azmitia, 2000). Έρευνες σε μύες που δεν εκφράζουν τους CB<sub>1</sub> υποδοχείς υπέδειξαν ότι επηρεάζεται η βραχύχρονη και η μακρόχρονη απόσβεση δυσάρεστων μνημών (Alger, 2004; Παναγής & Καστελλάκης, 2006). Αντίθετα, η χορήγηση του ανταγωνιστή των υποδοχέων των κανναβινοειδών SR14116A προκαλεί βελτίωση της μνήμης (Rubino, Vigano, Zagato, Sala & Parolaro, 2000).

Εκτός της μνήμης, φαίνεται ότι επηρεάζονται και άλλες γνωστικές λειτουργίες όπως και η μάθηση (Lawston et al., 2000; Julien, 2003; Drews et al., 2005; Arenos et al., 2006). Υπάρχουν ακόμα στοιχεία ότι η χορήγηση  $\Delta^9$ -THC επηρεάζει την διαμεσολαβούμενη από τον ιππόκαμπο διεργασία προσοχής (Lawston et al., 2000). Τα κανναβινοειδή επηρεάζουν τη σχετιζόμενη με τον ιππόκαμπο μάθηση και την βραχυπρόθεσμη συναπτική πλαστικότητα. Επιπλέον, αποκλεισμός των CB<sub>1</sub> υποδοχέων οδηγεί σε ελλείμματα στην επεξεργασία πληροφοριών (Arenos et al., 2006).

## **I. Άλλες Θεραπευτικές Εφαρμογές**

Πέραν των παραπάνω επιδράσεων των κανναβινοειδών, οι ουσίες αυτές έχουν συνδεθεί και με την αναστολή ανάπτυξης όγκων και την αύξηση της επιβίωσης σε ζωικό πρότυπο νεοπλασίας. Επιπλέον, πιστεύεται ότι μπορεί να δρουν θεραπευτικά και σε ορισμένα συμπτώματα κυστικής ίνωσης.

Τα κανναβινοειδή παρουσιάζουν θεραπευτικές δράσεις και στην περίπτωση του γλαυκώματος (Green, 1998; Robson, 2001; Jarvinen, Pate, & Laine, 2002; Παναγής & Καστελλάκης, 2006; Amer, 2006; Xu, Cheng, Chen, Manivannan, Cabay, Pertwee,

Coutts & Forrester, 2007). Το γλαύκωμα αποτελεί μια νευροαναπτυξιακή διαταραχή που χαρακτηρίζεται από αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης η οποία μπορεί να οδηγήσει σε τύφλωση αν δεν αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά (Jarvinen et al., 2002; Amer, 2006). Η θεραπευτική εφαρμογή στην περίπτωση του γλαυκώματος μπορεί να επιτευχθεί είτε με από του στόματος χορήγηση είτε με τοπική χορήγηση (Green, 1998). Και στην περίπτωση του γλαυκώματος, οι ανεπιθύμητες ενέργειες των κανναβινοειδών στο ΚΝΣ αποτελούν τροχοπέδη στην κλινική εφαρμογή τους (Jarvinen et al., 2002).

Η Δ<sup>9</sup>-THC έχει επίσης και αντιασθματικές ιδιότητες (Robson, 2001; Παναγής & Καστελλάκης, 2006; Xu et al., 2007).

Τέλος, αλλαγές στη λειτουργία του ενδογενούς συστήματος κανναβινοειδών φαίνεται ότι μπορούν να βοηθήσουν στην αντιμετώπιση διαφόρων μορφών υπέρτασης και σε περιπτώσεις υποτασικού σοκ (Παναγής & Καστελλάκης, 2006).

### 3. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΑΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΚΑΝΝΑΒΙΝΟΕΙΔΩΝ

Σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, όλες οι εξαρτησιογόνοι ουσίες παρουσιάζουν ένα κοινό υπόστρωμα (π.χ. η μεσολάβηση του μεσομεταιχμιακού ντοπαμινεργικού συστήματος) και η χρόνια χρήση τους είναι δυνατό να οδηγήσει στην ευαισθητοποίηση των νευρωνικών συστημάτων (Muschamp & Siviy, 2002). Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι η συμπεριφορική ευαισθητοποίηση είναι λιγότερο πιθανό να προκληθεί από την Δ<sup>9</sup>-THC από ότι από άλλες ψυχοτρόπες ουσίες (Varvel, Martin & Lichtman, 2007).

Τα δεδομένα σχετικά με την χρόνια χορήγηση Δ<sup>9</sup>-THC στον άνθρωπο δεν φαίνεται να είναι συνεπή μεταξύ τους. Έρευνες αναφέρουν την ανάπτυξη ανοχής έπειτα από χρόνια χορήγηση τόσο μερικών αγωνιστών όπως η Δ<sup>9</sup>-THC (Oviedo, Glowa & Herkenham, 1993; Romero, Berrendero, Garcia-Gil, Lin, Makriyannis, Ramos & Fernandez-Ruiz, 1999; Rubino, Vigano, Costa, Colleoni & Parolaro, 2000; Gordon & Devinsky, 2001; Sim-Selley & Martin, 2002) όσο και πλήρων αγωνιστών, όπως το WIN55,212-2 (Sim-Selley & Martin, 2002).

Το φαινόμενο της ανοχής αναφέρεται στη μείωση των φυσιολογικών και συμπεριφορικών επιδράσεων έπειτα από την χρόνια χορήγηση μια ουσίας. Έτσι, η χρόνια χορήγηση Δ<sup>9</sup>-THC φαίνεται ότι προκαλεί ανοχή στις σχετικές με την υποθερμία, την κινητική δραστηριότητα και τις γνωστικές λειτουργίες (όπως η βραχύχρονη μνήμη) δράσεις της Δ<sup>9</sup>-THC. Παρ' όλα αυτά, η ανοχή που αναπτύσσεται δεν είναι πλήρης ούτε παρατηρείται στον ίδιο βαθμό σε όλες τις δράσεις της Δ<sup>9</sup>-THC. Επιπροσθέτως, μέχρι και σήμερα δεν είναι γνωστό το τι αντικατοπτρίζουν οι φυσιολογικές αλλαγές σε συμπεριφορικό επίπεδο (Whitlow, Freedland & Porrino, 2003).

Επίσης έχει υποστηριχθεί ότι προκαλείται απευαισθητοποίηση (Sim-Selley & Martin, 2002; Whitlow et al., 2003) και προς τα κάτω ρύθμιση των CB υποδοχέων (Romero et al., 1999; Sim-Selley & Martin, 2002; Whitlow et al., 2003). Παρ' όλα αυτά, η χρόνια έκθεση στο ενδογενές κανναβινοειδές ανανταμίδιο δεν οδηγεί στην προς τα κάτω ρύθμιση των CB υποδοχέων και στην ανάπτυξη ανοχής πιθανώς λόγω της ταχείας αποδόμησής του (Romero et al., 1999). Η έρευνα των Rubino, Vigano, Costa, Colleoni & Parolaro (2000) φαίνεται ότι αντικρούει το παραπάνω εύρημα. Η εν λόγω έρευνα αναφέρει την ικανότητα του ανανταμιδίου να προκαλεί συμπεριφορική ανοχή χωρίς

όμως την πρόκληση αλλαγών σε επίπεδο υποδοχέων. Σύμφωνα με τον Rubino και τους συνεργάτες του τα αντικρουόμενα αυτά ευρήματα πιθανώς να σχετίζονται με διαφορετικές δόσεις καθώς και με τους χρόνους έκθεσης (Rubino et al., 2000).

Το γεγονός μάλιστα ότι η χρόνια χορήγηση  $\Delta^9$ -THC προκαλεί προς τα κάτω ρύθμιση των  $CB_1$  υποδοχέων δεν αποτελεί νέο εύρημα. Ο Forenseca και οι συνεργάτες του (1992) αναφέρουν προς τα κάτω ρύθμιση των υποδοχέων των κανναβινοειδών στο ραβδωτό και τον πρόσθιο εγκέφαλο. Τα ευρήματα μάλιστα αυτά συσχετίζονται με τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης  $\Delta^9$ -THC στην κίνηση (Forenseca, Gorriti, Fernandez-Ruiz, Palomo & Ramos, 1994; Romero, Garcia, Fernandez-Ruiz, Cebeira & Ramos, 1995). Παρ' όλα αυτά, ο ρυθμός απευαισθητοποίησης και προς τα κάτω ρύθμισης των  $CB_1$  υποδοχέων διαφοροποιείται ανά περιοχή (Romero et al., 1995,1997,1999). Η  $\Delta^9$ -THC προκαλεί μεγαλύτερη απευαισθητοποίηση σε κάποιες περιοχές συγκριτικά με το WIN55,212-2 οφειλόμενη πιθανώς στην χημική δομή, την φαρμακοκινητική και την φαρμακοδυναμική της (Sim-Selley & Martin, 2002). Παρ' όλα αυτά, η επαναλαμβανόμενη χορήγηση της  $\Delta^9$ -THC, σύμφωνα με την έρευνα των Varvel, Martin & Lichtman (2007), δεν προκαλεί συμπεριφορική ευαισθητοποίηση (Varvel et al., 2007).

Όπως προαναφέρθηκε αντοχή φαίνεται επίσης ότι αναπτύσσεται και στις επιδράσεις των κανναβινοειδών στην κινητική δραστηριότητα (Oviedo et al., 1993; Forenseca et al., 1994; Romero, Berrendero, Garcia, Ramos & Fernandez-Ruiz, 1998; Sim-Selley & Martin, 2002). Η αντοχή αυτή βασίζεται στις φαρμακοδυναμικές ιδιότητες των κανναβινοειδών και στην προς τα κάτω ρύθμιση των  $CB$  υποδοχέων σε κινητικές περιοχές όπως τα βασικά γάγγλια και η παρεγκεφαλίδα (Romero et al., 1998).

Σε μια άλλη προσέγγιση, πρόσφατες έρευνες σε επίμυες έδειξαν ότι η επαναλαμβανόμενη χορήγηση κανναβινοειδών οδηγεί σε αυξημένη νοραδρενεργική δραστηριότητα που μάλιστα σχετίζονται με τις αγχογόνες επιδράσεις των κανναβινοειδών (Page, Oropeza, Sparks, Qian, Menko, Van Bockstaele, 2007). Η  $\Delta^9$ -THC, όπως και οι περισσότερες ψυχοτρόποι ουσίες, απεκκρίνεται μόνο σε πολύ μικρές ποσότητες στα ούρα των χρηστών και για τον λόγο αυτό η εξέταση ούρων αφορά κατά κύριο λόγο τον προσδιορισμό των μεταβολιτών της. Οι χρόνοι ημιζωής της στα ούρα κυμαίνονται από 30 έως 60 ώρες και αυξάνονται ακόμα περισσότερο στα παχύσαρκα άτομα. Οι χρόνιοι χρήστες φαίνεται να παρουσιάζουν συνεχώς θετικές εξετάσεις για τους μεταβολίτες της  $\Delta^9$ -THC ακόμα και αν καπνίζουν μόνο δύο με τρεις φορές εβδομαδιαίως. Χαρακτηριστικό είναι μάλιστα ότι ένας δεινός καπνιστής

μπορεί να παρουσιάζει θετικές εξετάσεις ούρων ακόμα και ένα μήνα μετά την διακοπή του καπνίσματος (Julien, 2003).

Μελέτες σε ανθρώπους υποδεικνύουν ότι η απόσυρση των κανναβινοειδών έπειτα από βαριά χρόνια χορήγηση οδηγεί σε σύνδρομο στέρησης παρόμοιο με αυτό που προκαλείται από άλλες ψυχοτρόπες ουσίες και κυρίως την νικοτίνη. Το σύνδρομο αυτό, χαρακτηρίζεται από ευερεθιστότητα, αυξημένο άγχος, καταθλιπτική διάθεση, διαταραχές ύπνου, αυξημένη επιθετικότητα και μειωμένη διάθεση. Τα στερητικά συμπτώματα είναι εντονότερα την πρώτη και τη δεύτερη εβδομάδα ενώ τα συμπτώματα φαίνεται ότι επιμένουν μέχρι και ένα μήνα ή και περισσότερο μετά.

Έρευνες έδειξαν ότι καθημερινή χορήγηση  $\Delta^9$ -THC σε δόσεις των 10mg/kg, σε μια περίοδο των τριών εβδομάδων οδηγεί στη σταδιακή μείωση της πυκνότητας των CB<sub>1</sub> υποδοχέων. Σε ορισμένες μάλιστα περιοχές του εγκεφάλου φαίνεται ότι οι CB υποδοχείς είχαν απευαισθητοποιηθεί πλήρως έπειτα από χορήγηση τριών εβδομάδων (Meyer & Quenzer, 2005). Φαίνεται ακόμα ότι η μακροχρόνια χρήση κανναβινοειδών οδηγεί σε γνωστικά ελλείμματα τα οποία σχετίζονται με την ντοπαμινεργική δραστηριότητα στον προμετωπιαίο φλοιό (Jentsch, Verrico & Le D, Roth, 1998).

Έχει δειχθεί επανειλημμένως ότι η χρόνια χορήγηση  $\Delta^9$ -THC οδηγεί σε ευαισθητοποίηση στην αμφεταμίνη και την μορφίνη, υποδεικνύοντας ότι η χρήση κάνναβης είναι δυνατό να οδηγήσει στην αναζήτηση και άλλων ψυχοτρόπων ουσιών. Αντίθετα, αναφορικά με τη χορήγηση συνθετικών αγωνιστών (όπως το HU-210) τα ευρήματα δεν φαίνεται να είναι συνεπή με τα αντίστοιχα για την  $\Delta^9$ -THC (Maschamp & Sivi, 2002).

Η χρόνια χορήγηση  $\Delta^9$ -THC προκαλεί μακροπρόθεσμες αλλαγές στις συνάψεις, όμοιες δηλαδή αλλαγές με αυτές που παρατηρούνται και σε άλλες ψυχοτρόπες ουσίες. Σύμφωνα με την έρευνα των Kolb, Gorny, Limebeer & Parker (2006), η χρόνια χορήγηση THC οδήγησε στην αύξηση του μήκους των δενδριτών καθώς και στην αύξηση του αριθμού των δενδριτικών ακάνθων στον επικλινή πυρήνα και τον μέσο προμετωπιαίο φλοιό. Παρόμοια ευρήματα όμως δεν βρέθηκαν σε άλλες περιοχές συμπεριλαμβανομένου του υποκάμπτου, του ραβδώτου και του ινιακού λοβού. Οι δομικές αλλαγές που ακολούθησαν την χρόνια χορήγηση της  $\Delta^9$ -THC δεν ακολούθηθηκαν από συμπεριφορική ευαισθητοποίηση της κινητικής δραστηριότητας.

Η έρευνα λοιπόν αυτή αποδεικνύει ότι η χρόνια χορήγηση της  $\Delta^9$ -THC οδηγεί στις ίδιες αλλαγές στη μορφολογία των δενδριτών με αυτές που παρατηρούνται έπειτα από χρόνια χορήγηση αμφεταμίνης, νικοτίνης και μορφίνης (Kolb et al., 2006).



Αντίθετα, προγενέστερες έρευνες σε επίμυες, έδειξαν αλλαγές και στη μορφολογία του ιπποκάμπου έπειτα από χρόνια χορήγηση  $\Delta^9$ -THC. Οι αλλαγές μάλιστα αυτές στη μορφολογία έχουν συσχετιστεί με αλλαγές σε γνωστικές διεργασίες όπως η μάθηση και η μνήμη (Lawston et al., 2000).

Παρόλο που τα κανναβινοειδή έχουν βρεθεί στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος τις τελευταίες δεκαετίες φαίνεται ότι στο πειραματικό πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έχουν μελετηθεί μόνο οι οξείες επιδράσεις τους. Η μελέτη των πιθανών ενισχυτικών επιδράσεων των κανναβινοειδών στο εν λόγω πειραματικό πρότυπο έχει αναμφισβήτητα μεγάλο ενδιαφέρον. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν οι επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης του  $CB_1$  αγωνιστή WIN55,212-2 στον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού αλλά και στην αυθόρμητη κινητική δραστηριότητα σε ενήλικες άρρενες επίμυες.

## B. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Το ενδιαφέρον για την έρευνα πάνω στο ενδογενές σύστημα κανναβινοειδών έχει αυξηθεί ιδιαίτερος τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω των δυνητικών θεραπευτικών εφαρμογών των κανναβινοειδών. Παρ' όλα αυτά, οι ψυχοτρόποι δράσεις της κάνναβης έχουν κάνει την επιστημονική κοινότητα σκεπτική ως προς τη θεραπευτικής αξιοποίησής της.

Διάφορες ψυχοτρόποι ουσίες που χαρακτηρίζονται από την πρόκληση ευφορίας στον άνθρωπο παρουσιάζουν ενισχυτικές ιδιότητες και αυξάνουν την κινητική δραστηριότητα σε πειραματικά πρότυπα ζώων. Προγενέστερες έρευνες έδειξαν ότι η οξεία χορήγηση  $\Delta^9$ -THC αλλά και το WIN55,212-2 δεν έχει ενισχυτικές ιδιότητες στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (Vlachou et al., 2003; Vlachou et al., 2005; Vlachou et al., 2007). Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι η διεθνής βιβλιογραφία περιορίζεται στη μελέτη των επιδράσεων της οξείας χορήγησης κανναβινοειδών στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ενώ υπάρχει ένα κενό σχετικά με τις πιθανές ενισχυτικές επιδράσεις έπειτα από την χρόνια χορήγηση των κανναβινοειδών στο εν λόγω πρότυπο.

Προηγούμενες μελέτες με άλλες ψυχοτρόπες ουσίες έχουν δείξει ότι η χρόνια χορήγηση οδηγεί στην ανάπτυξη ανοτοχής ή ευαισθητοποίησης. Το ερώτημα αν και τα κανναβινοειδή είναι ικανά να προκαλέσουν ανοτοχή ή ευαισθητοποίηση παραμένει μέχρι και σήμερα αναπάντητο.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης του  $CB_1$  αγωνιστή WIN55,212-2 στις διεργασίες ανταμοιβής και στην κινητική δραστηριότητα. Μέσα από τις μελέτες αυτές έγινε προσπάθεια να απαντηθεί το ερώτημα κατά πόσον αναπτύσσεται ανοτοχή ή ευαισθητοποίηση στις δράσεις του WIN55,212-2 έπειτα από χρόνια χορήγηση στα συγκεκριμένα πρότυπα.

Η μελέτη της δράσης του WIN55,212-2 στη συμπεριφορά ανταμοιβής έγινε με την χρήση της μεθόδου μετατόπισης της καμπύλης του προτύπου ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ η μελέτη της κινητικής δραστηριότητας πραγματοποιήθηκε σε ανοιχτό πεδίο με την χρήση αυτοματοποιημένων συστημάτων καταγραφής. Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε άρρενες επίμυες.

## Γ. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### 1. Πειραματόζωα

Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 60 άρρενες επίμυες Sprague-Dawley. Συγκεκριμένα, στα πειράματα κινητικότητας χρησιμοποιήθηκαν 40 επίμυες, βάρους 250-350γρ., ενώ στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού χρησιμοποιήθηκαν 20 επίμυες, βάρους 300-370γρ. κατά την ημέρα της επέμβασης.

Οι επίμυες διέμεναν σε δωμάτιο με σταθερή θερμοκρασία (20-23 °C) και με σταθερά εναλλασσόμενο φωτισμό (08.00-20.00 φως ενώ 20.00-08.00 σκοτάδι), ενώ είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό. Τα ζώα τοποθετούνταν σε κλωβούς ανά 2-3 πριν από την έναρξη των πειραμάτων. Τα ζώα των πειραμάτων της κινητικότητας τοποθετούνταν ανάλογα με την πειραματική ομάδα σε κλωβούς ανά 2-3 καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων. Τα ζώα των πειραμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού μετά την χειρουργική επέμβαση τοποθετούνταν μεμονωμένα σε ατομικό κλωβό.

Όλα τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού πραγματοποιούνταν σε σταθερή θερμοκρασία και πάντα κατά τη διάρκεια της φάσης φωτός του 24-ώρου κύκλου φωτός-σκότους. Τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ολοκληρώνονταν τουλάχιστον 1 ώρα πριν από το τέλος της φάσης φωτός ενώ τα αντίστοιχα της κινητικότητας ολοκληρώνονταν μέχρι τις 17.00. Οι μετρήσεις στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού πραγματοποιούνταν σε σταθερή—για το εκάστοτε ζώο—ώρα σε καθημερινή βάση. Επιπροσθέτως, οι καθημερινές χορηγήσεις φαρμάκων στα ζώα των πειραμάτων της κινητικότητας επίσης γίνονταν σε σταθερές ώρες καθημερινά σε μια περίοδο 20 ημερών.

Τόσο στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού όσο και στα πειράματα της κινητικότητας τα ζώα εξοικειώνονταν αρχικά με τον πειραματιστή. Τα ζώα που έλαβαν μέρος στα πειράματα της κινητικότητας, τοποθετούνταν στο δωμάτιο που γινόταν η καταγραφή της κινητικής συμπεριφοράς για 3 ώρες, 2 ημέρες πριν την πρώτη μέτρηση με σκοπό την εξοικείωση τους με τον περιβάλλοντα χώρο. Επιπλέον, έλαβαν ενδοπεριτοναϊκές ενέσεις με φυσιολογικό ορό, ώστε να εξοικειωθούν με την διαδικασία της ενδοπεριτοναϊκής ένεσης.

Μετά την ολοκλήρωση των πειραμάτων τα ζώα θυσιάζονταν με εγκεκριμένη μέθοδο ευθανασίας.

## **2. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού**

### **2.1 Χειρουργικές Επεμβάσεις: Στερεοταξική Εμφύτευση Ηλεκτροδίων**

Οι χειρουργικές επεμβάσεις πραγματοποιούνταν ενώ το ζώο βρισκόταν σε γενική αναισθησία. Η αναισθησία πραγματοποιήθηκε με την ενδομυϊκή χορήγηση ξυλαζίνης (10mg/kg) και υδροχλωρικής κεταμίνης (100mg/kg) και την προσθήκη θειικής ατροπίνης (0.6mg/kg). Η χορήγηση ατροπίνης στόχευε στην αποφυγή της βραδυκαρδίας και την ελάττωση των βρογχικών εκκρίσεων καθώς και της πιθανής καρδιακής ανακοπής που μπορεί να προκαλέσει η υδροχλωρική κεταμίνη.

Για την εμφύτευση των ηλεκτροδίων χρησιμοποιήθηκε η στερεοταξική συσκευή (David Kopf Instruments). Στον κάθε επίμυ εμφυτεύτηκε ηλεκτρόδιο στην περιοχή του έξω υποθαλάμου. Οι συντεταγμένες προσδιορίστηκαν από τον στερεοταξικό άτλαντα των Paxinos & Watson (1998) [προσθιοπίσθια -2.56mm με σημείο αναφοράς το βρέγμα, πλάγια -1.7mm από τη μέση γραμμή και -8.7mm ραχιαίο-κοιλιακά, από την επιφάνεια του κρανίου].

Χρησιμοποιήθηκαν ήταν μονοπολικά ηλεκτρόδια που κατασκευασμένα από ανοξείδωτο χάλυβα και είχαν διάμετρο 0.25mm. Ήταν μονωμένα με ειδικό βερνίκι (EpoxyLite) σε όλο το μήκος τους εκτός από την κωνική αιχμή τους. Η άνοδος ήταν κατασκευασμένη από τη βελόνη σύριγγας μιας χρήσεως 21G. Για τη σταθεροποίηση του ηλεκτροδίου και της ανόδου στο κρανίο τοποθετούνταν 5 μικρές βίδες γύρω από τις οποίες περιελισσόταν και το σύρμα της ανόδου. Το σύστημα ηλεκτροδίου-ανόδου σταθεροποιείτο με την προσθήκη ακρυλικού πολυμερούς ενώ τέλος στο χειρουργικό τραύμα γινόταν συρραφή με την χρήση ενός μεταξωτού ράμματος.

Οι εκπαιδεύσεις για τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ξεκινούσαν μια εβδομάδα μετά την στερεοταξική επέμβαση. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι σ' όλες τις φάσεις των πειραμάτων τηρούνταν οι κανόνες δεοντολογίας της Αμερικανικής Εταιρείας Νευροεπιστημών.

### **2.2 Το Πρότυπο του Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού**

Η μελέτη των επιδράσεων της χρόνιας χορήγησης του συνθετικού αγωνιστή των CB1 υποδοχέων (WIN 55,212-2) στη συμπεριφορά ενίσχυσης έγινε με το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού παράλληλα με τη χρήση της ψυχοφυσικής τεχνικής της μετατόπισης της καμπύλης.

Το πρότυπο αυτό βασίζεται στην ανακάλυψη των Milner & Olds (1954) ότι ο άμεσος ηλεκτρικός ερεθισμός του εγκεφάλου μπορεί να είναι ιδιαίτερα ενισχυτικός και ότι επίμυες που τους έχει εμφυτευθεί ηλεκτρόδιο σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου είναι σε θέση να μάθουν να πιάζουν ένα μοχλό σε ένα κλωβό συντελεστικής μάθησης (Skinner Box), για να αυτοερεθίζονται με ηλεκτρικό ρεύμα την εν λόγω περιοχή.

Πολλές μελέτες υποστηρίζουν ότι οι εξαρτησιογόνοι ουσίες επιδρούν στη συμπεριφορά αυτή επηρεάζοντας το υπόστρωμα του ενισχυτικού εγκεφαλικού ερεθισμού (Παναγής, 2002).

### **2.3 Πειραματική Διάταξη και Παράμετροι του Ερεθισμού**

Τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού πραγματοποιούνταν σε κλωβούς συντελεστικής μάθησης Skinner (Skinner Box). Οι κλωβοί αυτοί είναι κατασκευασμένοι από Plexiglas και έχουν διαστάσεις 25X25X30. Στο αριστερό μέρος του εκάστοτε κλωβού είναι τοποθετημένος ένας ατσάλινος μοχλός που βρίσκεται σε ύψος 4cm πάνω από τη βάση του κλωβού.

Το ηλεκτρόδιο συνδεόταν με ηλεκτρικό διεγέρτη. Η σύνδεση αυτή ήταν κατασκευασμένη με τέτοιο τρόπο ώστε να επιτρέπει στο ζώο να κινείται ελεύθερα στον κλωβό. Κάθε πίεση του μοχλού ενεργοποιούσε το διεγέρτη με αποτέλεσμα το ζώο να δέχεται ηλεκτρικό ερέθισμα ως ανταμοιβή. Το ηλεκτρικό ερέθισμα που δεχόταν το πειραματόζωο ως ανταμοιβή ήταν μια σειρά παλμών που αποτελούνταν από τις εξής παραμέτρους: είχε διάρκεια 0.4sec και αποτελούνταν από τετραγωνικούς καθοδικούς παλμούς σταθερής διάρκειας (0.1msec) και έντασης (250μΑ) και ποικίλης συχνότητας (15-125 Hz, δηλαδή 6-50 αριθμούς παλμών/0.4sec). Ο αριθμός των πιέσεων του μοχλού καταγράφονταν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή.

### **2.4 Εκπαίδευση των Πειραματόζωων στη Συμπεριφορά**

#### **Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού**

Πριν την έναρξη των πειραμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού προηγείται η εκπαίδευση των πειραματόζωων. Την πρώτη φορά που το ζώο τοποθετείται στον κλωβό αφήνεται να εξερευνήσει τον χώρο για λίγα λεπτά. Στη συνέχεια, χορηγούνται ηλεκτρικά ερεθίσματα συχνότητας 50 παλμών και έντασης 250μΑ. Από την αντίδρασή του πειραματόζωου γινόταν μια πρώτη εκτίμηση για το αν η εμφύτευση του ηλεκτροδίου ήταν επιτυχημένη.

Εν συνεχεία ο επίμυς δεχόταν ερέθισμα μόνο όταν πλησίαζε τον μοχλό. Έτσι, ο επίμυς συνέδεε την πίεση του μοχλού με το ενισχυτικό ερέθισμα και εκδήλωνε τη συμπεριφορά του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ακολούθως, ο επίμυς τοποθετούνταν επί μία ώρα για τρεις ημέρες στον κλωβό όπου λάμβανε ερέθισμα σταθερής έντασης και συχνότητας κάθε φορά που πατούσε το μοχλό.

Εν συνεχεία, οι επίμυες εκπαιδεύονταν να αυτοερεθίζονται με την χορήγηση 4 εναλλασσόμενων σειρών μεταβαλλόμενων συχνοτήτων. Οι συχνότητες ξεκινούσαν από την υψηλότερη και αφού έφθαναν στη χαμηλότερη (2 μετρήσεις ανά συχνότητα) κατέληγαν προοδευτικά και πάλι στην υψηλότερη (άλλες 2 μετρήσεις ανά συχνότητα). Λαμβάνονταν συνολικά 4 μετρήσεις ανά συχνότητα.

Κάθε μέτρηση είχε διάρκεια 60sec και ακολουθούσαν από μια περίοδο απόσβεσης 30sec. Πριν από την έναρξη της εκπαίδευσης ή της πειραματικής διαδικασίας ο επίμυς πατούσε το μοχλό για 60sec στην υψηλότερη συχνότητα, ως υπενθύμιση της πειραματικής διαδικασίας. Η μέτρηση αυτή δεν καταγραφόταν και δεν λαμβανόταν υπόψιν. Επιπροσθέτως, πριν από την έναρξη της κάθε δοκιμής ο επίμυς δεχόταν 3 σειρές παλμών ερεθισμού (priming) ως υπενθύμιση, στην ίδια συχνότητα παλμών της δοκιμής που ακολουθούσε. Το σύνολο των δοκιμών μας έδινε τη λεγόμενη καμπύλη συχνότητας ερεθισμού-αντιδράσεων πειραματόζωου (καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού).

Η διαδικασία αυτή επαναλαμβανόταν καθημερινά έως ότου η καμπύλη της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού παρέμενε σχετικά σταθερή και δεν παρουσίαζε απόκλιση μεγαλύτερη του 10% για 3 ημέρες. Η πειραματική διαδικασία ξεκινούσε μόλις οι αντιδράσεις του επίμυ είχαν σταθεροποιηθεί.

## 2.5 Επεξεργασία και Ανάλυση Δεδομένων

Κάθε καμπύλη ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού των αναλύθηκε με βάση την παραλλαγή του σιγμοειδούς μοντέλου του Compertz (Coulombe & Miliaressis, 1987):

$$f(X) = a e^{-e^{-b(x_i - x)}}$$

Όπου το  $a$  αντιστοιχεί στο μέγιστο ποσοστό αντίδρασεων του πειραματόζωου (ασύμπτωτος) και το  $x_i$  εκφράζει τη συχνότητα στην οποία αντιστοιχεί ο ουδός του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ο ουδός είναι ο αριθμός των παλμών που αντιστοιχεί

στο 37,19% της τιμής της ασύμπτωτου. Η ασύμπτωτος βρίσκεται στην περιοχή της καμπύλης με την μεγαλύτερη κλίση. Η παράμετρος  $b$  αντιπροσωπεύει έναν δείκτη της κλίσης και το  $e$  αποτελεί τη βάση των νεπέριων λογαρίθμων.

## 2.6 Η Μέθοδος Μετατόπισης της Καμπύλης

Η μέθοδος της μετατόπισης της καμπύλης έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα έγκυρη και αξιόπιστη και θεωρείται ως η καταλληλότερη για μελέτες που αξιολογούν τις πιθανές ενισχυτικές ιδιότητες των ουσιών.

Πρόκειται για μια ψυχοφυσική μέθοδο με την οποία καταγράφεται η συμπεριφορά ενός οργανισμού στις μεταβολές μιας παραμέτρου του ερεθίσματος όπως η συχνότητα ερεθίσματος, η ένταση ερεθίσματος, η διάρκεια παλμού, η διάρκεια παλμοσειράς κτλ. Με την μέθοδο αυτή προκύπτει μια σιγμοειδής καμπύλη που μοιάζει με τις κλασικές λογαριθμικές δοσοεξαρτώμενες καμπύλες της φαρμακολογίας. Η διαφορά τους έγκειται στο γεγονός ότι στη μια περίπτωση μελετάται η αποτελεσματική δόση ενός φαρμάκου και στην άλλη η «δόση» ή η αποτελεσματικότητα του ηλεκτρικού ερεθίσματος.

Στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού λαμβάνουμε δύο καμπύλες η μία από τις οποίες είναι αποτέλεσμα κάποιου πειραματικού χειρισμού (π.χ. η χορήγηση ενός φαρμάκου) ενώ η άλλη έχει ληφθεί σε συνθήκες ελέγχου. Συγκρίνοντας τις καμπύλες αυτές μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη δράση του συγκεκριμένου πειραματικού χειρισμού στη συμπεριφορά ανταμοιβής και στην κινητική δραστηριότητα του πειραματόζωου. Παρατηρείται αν ο πειραματικός χειρισμός μετατοπίζει την καμπύλη κάθετα ή οριζόντια και πόσο. Σημαντική μετατόπιση της καμπύλης προς τα δεξιά (δηλαδή προς τις υψηλότερες τιμές ερεθισμάτων) ή προς τα αριστερά (προς τις χαμηλότερες τιμές ερεθισμάτων), ερμηνεύεται ως αλλαγή στην αποτελεσματικότητα της ενίσχυσης του εγκεφαλικού ερεθισμού.

Αν λοιπόν απαιτείται διπλάσιος αριθμός παλμών ερεθισμού από ότι συνήθως για να επιτευχθεί ένα συγκεκριμένο επίπεδο απόκρισης, τότε μπορούμε να πούμε ότι η αποτελεσματικότητα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού έχει μειωθεί στο μισό. Μετατοπίσεις προς τα πάνω ή προς τα κάτω, δηλαδή προς υψηλότερα ή προς χαμηλότερα ποσοστά αντιδράσεων του πειραματόζωου ερμηνεύονται ως αλλαγές στην κινητική απόδοση του πειραματόζωου.

Το βασικότερο, όμως, πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι η δυνατότητα ποσοτικής εκτίμησης πειραματικών χειρισμών που επηρεάζουν την ανταμοιβή. Για το λόγο αυτό θεωρείται ως ιδιαίτερα αξιόπιστη και έγκυρη για τη μελέτη της πιθανής ενισχυτικής δράσης ψυχοτρόπων ουσιών.

## 2.7 Πειραματική Διαδικασία στη Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού

Στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο των Kenny, Koob & Markou (2003). Με βάση το πρωτόκολλο αυτό, χορηγήθηκε αρχικά για 5 ημέρες έκδοχο σε όλες τις πειραματικές ομάδες. Οι μετρήσεις των 4 πρώτων ημερών που χορηγήθηκε έκδοχο έγιναν με σκοπό τον υπολογισμό των τιμών αναφοράς (baseline). Συγκεκριμένα, υπολογίστηκε ο μέσος όρος 8 τιμών, οι τιμές πριν τη χορήγηση των 4 ημερών και οι τιμές μετά τη χορήγηση των 4 ημερών. Τιμές αναφοράς υπολογίστηκε τόσο για τον ουδό όσο και για την ασύμπτωτο.

Η 5<sup>η</sup> ημέρα χορήγησης εκδόχου χρησιμοποιήθηκε για την σύγκριση της επί τοις εκατό μεταβολής με βάση την τιμή αναφοράς. Συγκρίθηκε τόσο η μέτρηση πριν τη χορήγηση όσο και η μέτρηση μετά την χορήγηση.

Η πειραματική συνθήκη περιλάμβανε 20 ημέρες χορήγηση του αγωνιστή CB1 υποδοχέων WIN55,212-2. Οι τιμές των 20 ημερών εκφράστηκαν επίσης ως επί τοις εκατό μεταβολή στην τιμή αναφοράς. Μετά τη χορήγηση του WIN55,212-2 χορηγήθηκε και πάλι έκδοχο για 5 ημέρες. Οι τιμές των 5 ημερών εκφράστηκαν με τον ίδιο τρόπο και συγκρίθηκαν με την 5<sup>η</sup> ημέρα χορήγησης εκδόχου πριν τον πειραματικό χειρισμό.

Όλες οι χορηγήσεις έγιναν ενδοπεριτοναϊκά.



*Σχήμα 1: Διαγραμματική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού στη μελέτη του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού*



## **2.8 Ανάλυση Δεδομένων – Στατιστική Επεξεργασία Αποτελεσμάτων Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού**

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο του SPSS, 13<sup>η</sup> έκδοση.

Στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού αρχικά υπολογίστηκε η τιμή αναφοράς του ουδού του εγκεφαλικού ερεθισμού. Ως τιμή αναφοράς θεωρήθηκε ο μέσος όρος των μετρήσεων των 4 πρώτων ημερών κατά τις οποίες χορηγούνταν στο ζώο έκδοχο (μέσος όρος 8 συνολικά τιμών: 4 τιμές πριν τη χορήγηση και 4 τιμές μετά τη χορήγηση). Τα αποτελέσματα των ακόλουθων 26 μετρήσεων (5<sup>η</sup> ημέρα έκδοχο, 20 ημέρες WIN55,212-2, 5 ημέρες έκδοχο) εκφράστηκαν επί τοις εκατό στην τιμή αναφοράς.

Τα αποτελέσματα και των ημερών της χορήγησης εκδόχου (5<sup>η</sup> ημέρα πριν τη χορήγηση WIN55,212-2 και 5 ημέρες μετά) συγκρίθηκαν με το t-τεστ για την Σύγκριση Συσχετισμένων Δειγμάτων (Paired Samples t-test). Επιπροσθέτως, τα αποτελέσματα της χρόνιας χορήγησης WIN55,212-2 (20 ημέρες) αναλύθηκαν με Διπλής Κατεύθυνσης Ανάλυση Διακύμανσης με την μέθοδο των Επαναλαμβανόμενων Μετρήσεων (Repeated Measures Two-Way ANOVA). Πρέπει να σημειωθεί ότι πραγματοποιήθηκαν δύο από τις προαναφερθείσες αναλύσεις (μία για τις πριν τη χορήγηση τιμές των 20 ημερών και μία για τις μετά την χορήγηση τιμές των 20 ημερών). Ως ανεξάρτητες μεταβλητές θεωρήθηκαν ο χρόνος (20 ημέρες) και η δόση (WIN1, WIN0,3, WIN0,1). Οι στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις εκτιμήθηκαν με την χρήση κριτηρίου πολλαπλών συγκρίσεων, LSD (Least Significant Difference).

## **3. Μελέτη Κινητικότητας**

### **3.1 Μέτρηση της Κινητικότητας**

Οι μετρήσεις της κινητικότητας σε ανοιχτό πεδίο έγινε σε αυτοματοποιημένο σύστημα καταγραφής της κινητικότητας με φωτοκύτταρα (model 7445, UGO BASILE, Varese, Italy). Ο κλωβός αυτός είναι ορθογώνιος 41X41X33 και περιλαμβάνει μια ηλεκτρονική μονάδα καταγραφής και έναν εκτυπωτή.

Οι πλάγιες επιφάνειες των κλωβών διαθέτουν οριζόντιες και κάθετες σειρές φωτοκύτταρων. Οι μετακινήσεις και οι ανασηκώσεις των επίμυων προκαλούν διακοπές στις δεσμίδες φωτός οι οποίες καταγράφονται από τον καταγραφέα και

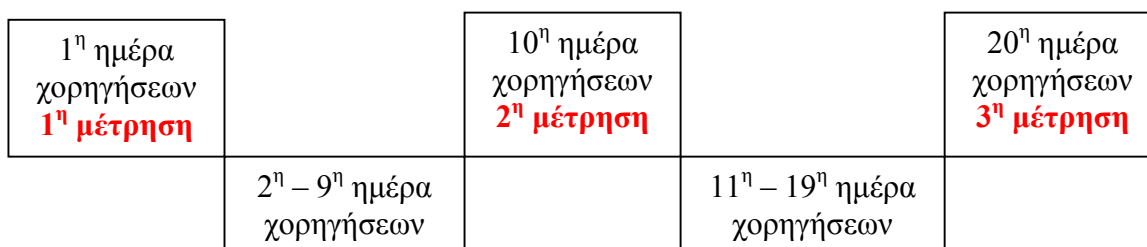
εκτυπώνονται ανά 5λεπτα στον εκτυπωτή. Στα πειράματα κινητικότητας η καταγραφή διαρκούσε 1 ώρα (12 5λεπτα).

### 3.2 Πειραματική Διαδικασία της Μελέτης της Κινητικότητας

Στα πειράματα της κινητικότητας τα πειραματόζωα χωρίστηκαν σε 4 ομάδες: 3 πειραματικές (3 διαφορετικές δόσεις WIN55212-2: 0.1, 0.3 και 1mg/kg) και η ομάδα ελέγχου (έκδοχο). Στην εκάστοτε ομάδα οι χορηγήσεις WIN55,212-2 ή εκδόχου γινόταν ενδοπεριτοναϊκά καθημερινά για μία περίοδο 20 ημερών.

Η κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων καταγραφόταν μόνο κατά την 1<sup>η</sup>, την 10<sup>η</sup> και την 20<sup>η</sup> ημέρα των χορηγήσεων. Η καταγραφή ξεκινούσε 10min μετά τις χορηγήσεις.

Στη στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιήθηκε το άθροισμα των μετακινήσεων και το άθροισμα των ανασηκώσεων για τον κάθε επίμυ για τη μια ώρα καταγραφής, στις 3 διαφορετικές ημέρες που προαναφέρθηκαν (1<sup>η</sup>, 10<sup>η</sup> και 20<sup>η</sup>).



*Σχήμα 2: Διαγραμματική απεικόνιση του πειραματικού σχεδιασμού στη μελέτη της κινητικότητας*

### 3.3 Ανάλυση Δεδομένων – Στατιστική Επεξεργασία

#### Αποτελεσμάτων Κινητικότητας

Τα αποτελέσματα της κινητικότητας αναλύθηκαν επίσης με Διπλής Κατεύθυνσης Ανάλυση Διακύμανσης με την μέθοδο των Επαναλαμβανόμενων Μετρήσεων (Repeated Measures Two-Way ANOVA). Αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστά για τις μετακινήσεις και ξεχωριστά για τις ανασηκώσεις. Οι στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις αναλύθηκαν εν συνεχεία με το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD.

## Δ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 1. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού

Η τιμή αναφοράς για τον ουδό του κάθε πειραματόζωου (Baseline) υπολογίστηκε από τον μέσο όρο των μετρήσεων πριν και μετά την χορήγηση των 4 πρώτων ημερών οι οποίες είχαν μεταξύ τους απόκλιση της τάξεως του  $\pm 10\%$ . Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 4**, κατά τη φάση υπολογισμού της τιμής αναφοράς, την 5<sup>η</sup> ημέρα χορήγησης εκδόχου οι μετρήσεις πριν και μετά την χορήγηση φάνηκε ότι δεν διέφεραν μεταξύ τους με βάση το στατιστικό κριτήριο T-Τεστ για συσχετισμένα δείγματα. Για την ομάδα χορήγησης WIN55,212-2 1mg/kg ο δείκτης  $t(1,6) = -2,88$ ,  $p > .008$ . Για την ομάδα χορήγησης WIN55,212-2 0.3 mg/kg ο δείκτης  $t(1,6) = -0,573$ ,  $p > .008$  και για την ομάδα WIN55,212-2 0.1mg/kg ο δείκτης  $t(1,4) = p > .008$ . Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας εκτιμήθηκε έπειτα από την διόρθωση Bonferroni.

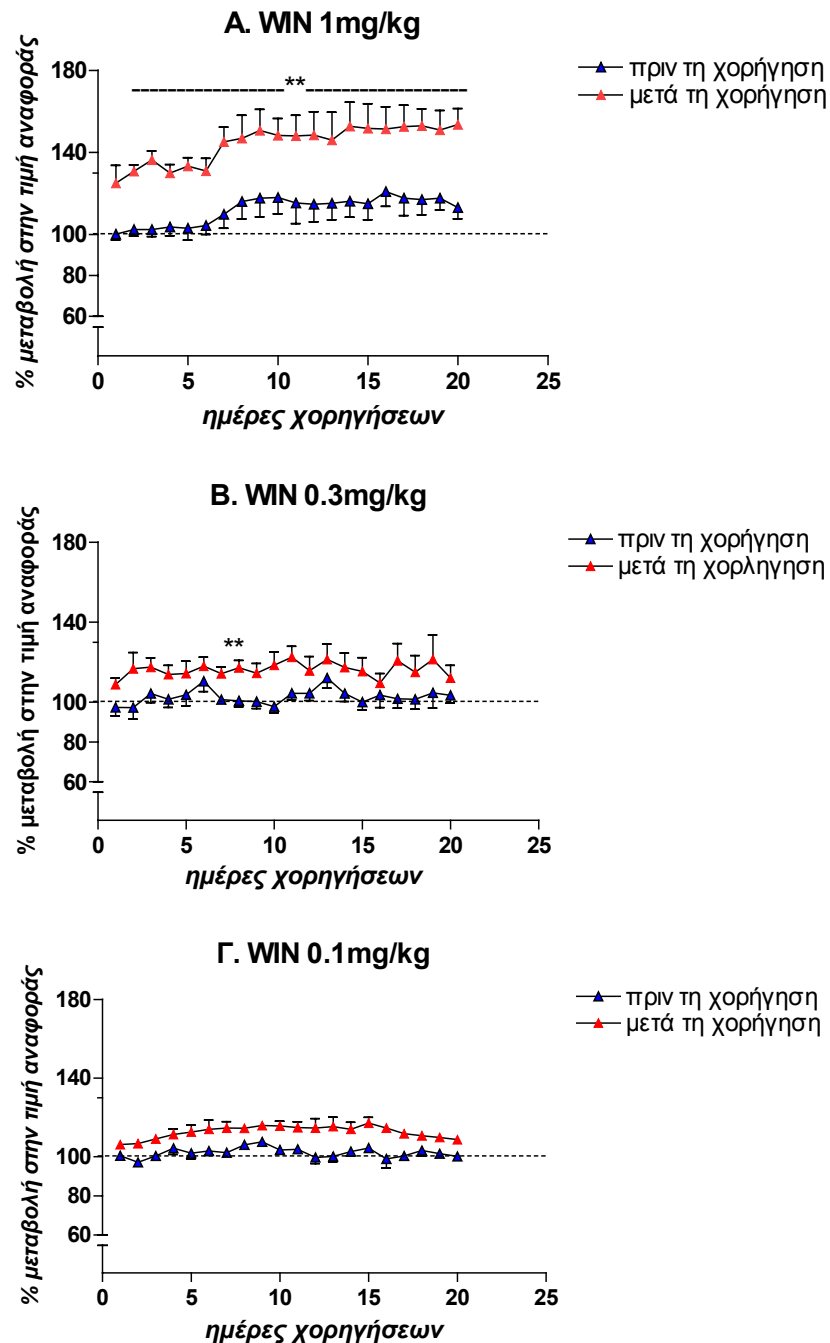
Κατά την πειραματική συνθήκη, η Διπλή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), έδειξε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση χρόνου-δόσης στις μετρήσεις πριν τη χορήγηση  $F=2.05$ ,  $p < 0.001$  αλλά το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δόσεων.

Η Διπλή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση χρόνου δόσης και μετά την χορήγηση με  $F=1.59$ ,  $p < 0.05$ . Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD έδειξε ότι το WIN1 διαφοροποιείται από το WIN0.3 και το WIN0.1 για  $p < 0.05$  έπειτα από την διόρθωση Bonferroni όπως φαίνεται και στο **Σχήμα 3**. Με βάση το LSD, το WIN0.3 δεν διαφοροποιείται από το WIN0.1 αφού  $p > 0.05$ . Οι διαφορές μεταξύ των δόσεων απεικονίζονται και στο **Σχήμα 5** όπου φαίνεται η μεγαλύτερη αύξηση του ουδού του ενδοκρανιακού ερεθισμού στην ομάδα χορήγησης του 1mg/kg. Στον κάθετο άξονα εκφράζεται η επί τοις % μεταβολή των μετρήσεων πριν και μετά τη χορήγηση.

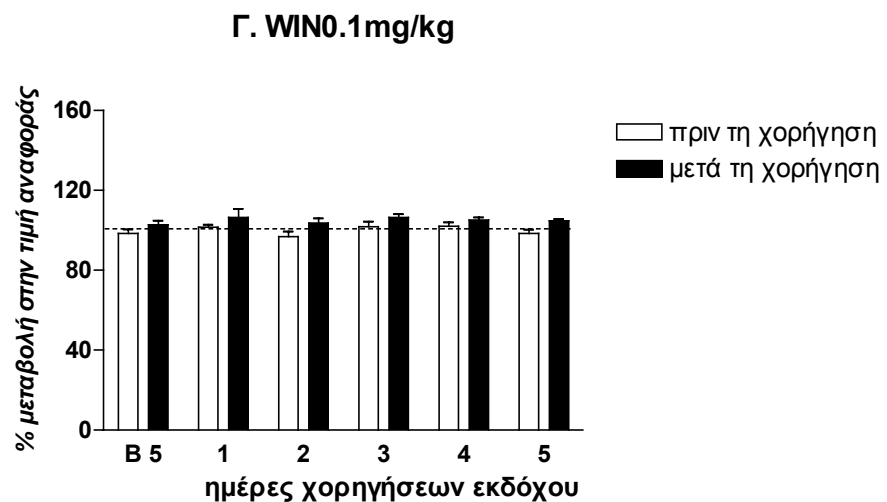
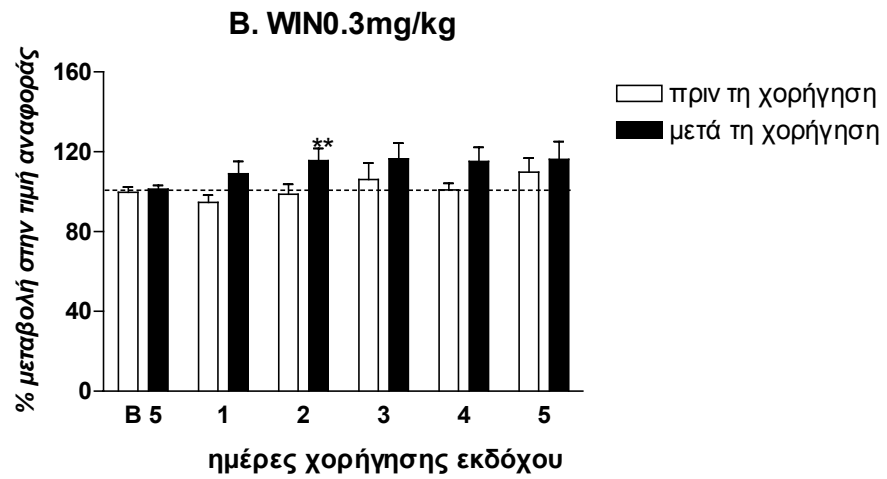
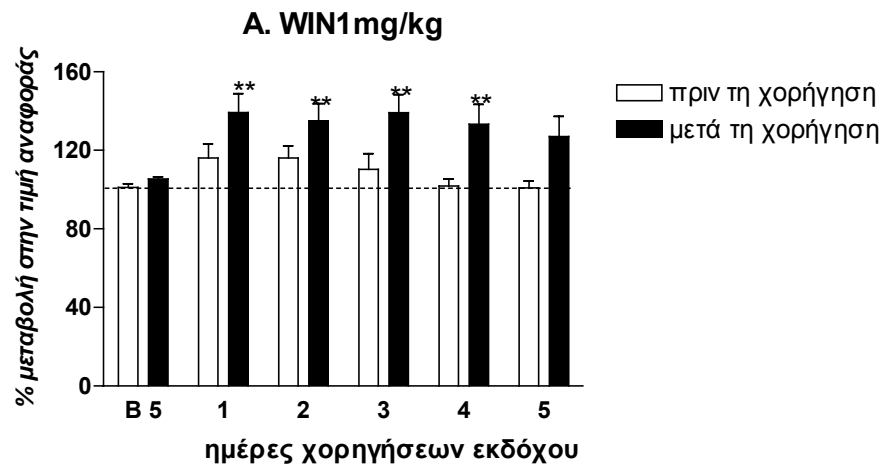
Η Ανάλυση Διακύμανσης για Επαναλαμβανόμενες Μετρήσεις για την κάθε δόση ξεχωριστά έδειξε στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου για το WIN1 με  $F=2.62$  και  $p=0.001$ . Ο χρόνος δεν βρέθηκε να έχει στατιστικά σημαντική επίδραση στο WIN0.3 όπου  $F=0.77$   $p > 0.05$  και στο WIN0.1 όπου  $F=1.26$ ,  $p > 0.05$ .

Για τις πέντε τελευταίες ημέρες χορηγήσεων το T-Τεστ για Συσχετισμένα Δείγματα έδειξε ότι στο WIN1 υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις πριν και μετά την χορήγηση του εκδόχου με το  $t$  να κυμαίνεται από  $(-4.51)$  έως  $(-2.57)$  με  $p < 0.05$ .

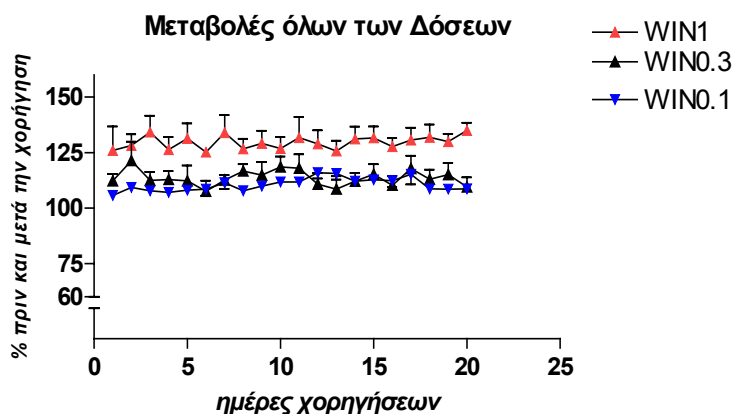
Στο WIN0.3 υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις στις πρώτες δύο μέρες όπου  $t_1 = (-3.56)$ ,  $p < 0.05$  και  $t_2 = (-3.76)$ ,  $p < 0.05$ . Στο WIN0.1 δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις πριν και μετά την χορήγηση με τα  $t$  να κυμαίνονται από  $(-7.71)$  έως  $(-1.36)$  για  $p > 0.05$ .



**Σχήμα 3:** Ο ουδός του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ακριβώς πριν (τη χορήγηση WIN55,212-2) και 10 λεπτά μετά (τη χορήγηση WIN55, 212-2). Καθημερινή χορήγηση (A) WIN1mg/kg, (B) WIN0.3mg/k, (Γ) WIN0.1mg/kg σε μια περίοδο 20 ημερών.



*Σχήμα 4: Ο ουδός του εγκεφαλικού ερεθισμού ακριβώς πριν (τη χορήγηση εκδόχου) και 10 λεπτά μετά (τη χορήγηση εκδόχου).*



Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση μεταβολών του ουδού του εγκεφαλικού ερεθισμού.

## 2. Μελέτη Κινητικής Δραστηριότητας

Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6 (Α)**, στα πειράματα της κινητικής δραστηριότητας, η Διπλή μη Συσχετισμένη Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου  $F=29.08$ ,  $p<0.001$  και σημαντική κύρια επίδραση της δόσης  $F=12.8$ ,  $p<0.001$  αλλά όχι στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση χρόνου-δόσης  $F=0.57$ ,  $p>0.05$ .

Η Ανάλυση Πολλαπλών Συγκρίσεων με το κριτήριο LSD έδειξε ότι το WIN1 διαφοροποιείται από το έκδοχο και το WIN0.1 για  $p<0.001$  αλλά όχι από το WIN0.3. Το WIN0.3 διαφοροποιείται από το έκδοχο για  $p<0.001$  και το WIN0.1 για  $p=0.001$ . Τέλος, το WIN0.1 δεν διαφοροποιείται από το έκδοχο ( $p>0.05$ ).

Φαίνεται λοιπόν ότι το WIN1 προκάλεσε στατιστικά σημαντική υποκινητικότητα για  $p<0.001$  και το WIN0.3 προκάλεσε επίσης στατιστικά σημαντική υποκινητικότητα για  $p=0.001$ .

Με βάση την Ανάλυση Διακύμανσης για Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την κάθε δόση, φαίνεται στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου σε όλες τις δόσεις, πλην του εκδόχου. Για το WIN1  $F=13.63$ ,  $p<0.001$ , για το WIN0.3  $F=20.60$ ,  $p<0.001$  και για το WIN0.1  $F=6.26$ ,  $p<0.05$ .

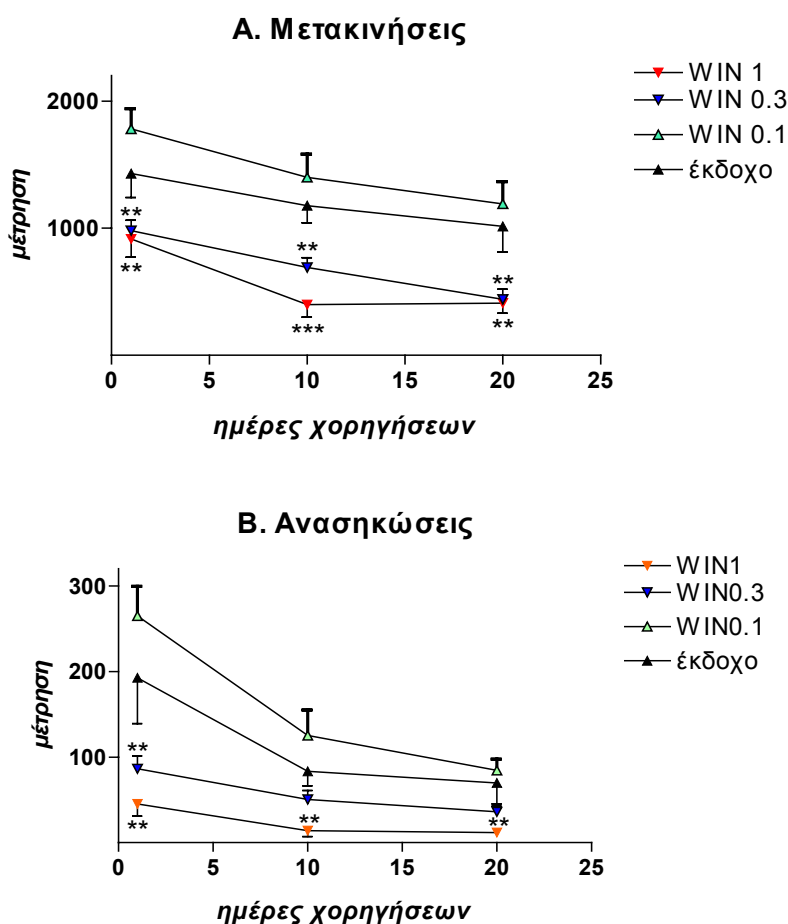
Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 6 (Β)**, αναφορικά με τις ανασηκώσεις των πειραματόζωων, η Διπλή μη Συσχετισμένη ANOVA έδειξε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση χρόνου-δόσης  $F=3.27$ ,  $p=0.007$ .

Το κριτήριο πολλαπλών συγκρίσεων LSD έδειξε ότι το WIN1 διαφοροποιείται από το έκδοχο στην πρώτη μέτρηση για  $p=0.001$ , και στις δύο επόμενες για  $p<0.05$ . Το

WIN0.3 διαφοροποιείται από το έκδοχο μόνο στην πρώτη μέτρηση για  $p < 0.05$ , ενώ το WIN0.1 δεν διαφοροποιείται από το έκδοχο  $p > 0.05$ .

Η Ανάλυση Διακύμανσης για Επαναλαμβανόμενες Μετρήσεις για την κάθε δόση έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου στο WIN1  $F=3.45$ ,  $p=0.54$ . Στο WIN0.3 και στο WIN0.1 βρέθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου για το WIN0.3  $F=4.39$ ,  $p < 0.05$ , για το WIN0.1  $F=12.6$ ,  $p < 0.001$ . Στατιστικά σημαντική επίδραση του χρόνου βρέθηκε και στο έκδοχο όπου  $F=7.24$ ,  $p < 0.05$ .

Φαίνεται λοιπόν ότι στις δύο μεγαλύτερες δόσεις του WIN55,212-2 οι ανασηκώσεις των πειραματόζωων μειώθηκαν σημαντικά.



Σχήμα 6: Σχηματική απεικόνιση αποτελεσμάτων κινητικότητας.

(A) μετακινήσεις (B) ανασηκώσεις

(\*\*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p = 0.001$ ).

## Ε. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 1. Μελέτη Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού

Η χορήγηση εκδόχου κατά την φάση υπολογισμού της τιμής αναφοράς δεν επηρέασε τον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού. Επιπροσθέτως, ο ουδός πριν την χορήγηση WIN55,212-2 ή εκδόχου στην διάρκεια των 30 ημερών παρέμεινε αμετάβλητος και στις 3 πειραματικές ομάδες. Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του WIN55,212-2 στη δόση του 1mg/kg αύξησε στον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού από την δεύτερη ημέρα της χορήγησης, υποδεικνύοντας τις ανηδονικές του ιδιότητες. Φαίνεται μάλιστα ότι δεν αναπτύσσεται ούτε αντοχή ούτε ευαισθητοποίηση σ' αυτές του τις ανηδονικές δράσεις. Κατά την φάση αντικατάστασης της χορήγησης του WIN55,21-2 (1mg/kg) με το έκδοχο, παρατηρήθηκε το φαινόμενο της εξαρτημένης ανηδονίας. Στη δόση των 0.3mg/kg παρατηρήθηκε μικρότερη αύξηση του ουδού η οποία βρέθηκε στατιστικά σημαντική μόνο την 7<sup>η</sup> και την 8<sup>η</sup> ημέρα της χορήγησης. Το φαινόμενο της εξαρτημένης ανηδονίας βρέθηκε στατιστικά σημαντικό μόνο την 2<sup>η</sup> ημέρα της χορήγησης εκδόχου στην ομάδα των 0.3mg/kg. Τέλος, στην ομάδα χορήγησης του 0.1mg/kg δεν βρέθηκε καμία αύξηση ή μείωση στον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού ούτε κατά τη χρόνια χορήγηση του WIN55,212-2 ούτε κατά την αντικατάστασή του με το έκδοχο τις 5 τελευταίες ημέρες.

Αναφορικά με τις υπόλοιπες ψυχοτρόπους ουσίες, ερευνητικά δεδομένα έχουν δείξει ότι η κοκαΐνη, το πλέον κλασικό ψυχοδιεγερτικό, έχει την ικανότητα να μειώνει τον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού τόσο μετά από οξεία όσο και μετά από χρόνια χορήγηση. Πρόσφατη έρευνα μάλιστα με το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού υποδεικνύει ότι η χρόνια χορήγηση κοκαΐνης επίσης δεν ακολουθείται από την ανάπτυξη αντοχής ή ευαισθητοποίησης στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού (Kenny et al., 2003). Η χρόνια χορήγηση ψυχοδιεγερτικών συμπεριλαμβανομένης της αμφεταμίνης και της μεθυλφαινυδάτης φαίνεται ότι προκαλεί συμπεριφορική ευαισθητοποίηση που έχει συσχετιστεί με νευροπροσαρμογές στο κύκλωμα ανταμοιβής (Yang, Swann & Danfy, 2006; Shi & McGinty, 2007).

Παρόλο που τα ευρήματα για τις επιδράσεις άλλων εθιστικών ψυχοτρόπων ουσιών (π.χ. κοκαΐνης, αμφεταμίνης, μορφίνης, αλκοόλης, νικοτίνης, φαινκυκλιδίνης) στην ενίσχυση του εγκεφαλικού ερεθισμού είναι συνεπή, υποδεικνύοντας ότι αυτές οι ουσίες αυξάνουν την ενίσχυση του ερεθισμού, τα αντίστοιχα που αφορούν στα



κανναβινοειδή φαίνεται να είναι αντικρουόμενα. Παλιότερες μελέτες του Gardner και των συνεργατών του έδειχναν ότι η  $\Delta^9$ -THC αυξάνει την ενισχυτική ικανότητα του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (Gardner, 2002), αν και κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες.

Σύμφωνα με την έρευνα της Vlachou και των συνεργατών της (2003), η οξεία χορήγηση WIN 55,212-2 σε δόσεις των 0.1, 0.3 και 1mg/kg, δεν επηρέασε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Στον αντίποδα, η έρευνα αυτή υπέδειξε σημαντική δοδο-εξαρτώμενη μείωση στο μέγιστο ποσοστό αντιδράσεων. Παρόμοια ευρήματα από οξείες χορηγήσεις έχουν αναφερθεί και σε έρευνες και με άλλους συνθετικούς αγωνιστές όπως το CP 55,940, το HU-210 και η λεβονανδραδόλη. Τα ευρήματα αυτά φαίνονται να είναι συνεπή καθώς οι αγωνιστές αυτοί σε μικρές δόσεις δεν επηρέασαν τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ σε μεγαλύτερες προκάλεσαν αύξηση του ουδού, γεγονός που υποδεικνύει ανηδονική δράση (Vlachou et al., 2003; Vlachou et al., 2005). Οι ανηδονικές δράσεις που παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερες δόσεις οφείλονται στη διέγερση των  $CB_1$  υποδοχέων των κανναβινοειδών καθώς αντιστρέφονται με τη χορήγηση εκλεκτικών ανταγωνιστών των  $CB_1$  υποδοχέων, όπως το SR141716A και το AM-251 (Vlachou et al., 2005).

Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση WIN55,212-2 δεν οδήγησε στην ανάπτυξη ανοχής στη συμπεριφορά ανταμοιβής. Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι η χρόνια χορήγηση  $\Delta^9$ -THC προκαλεί ανοχή στις σχετικές με την υποθερμία, την κινητική δραστηριότητα και τις γνωστικές λειτουργίες δράσεις της  $\Delta^9$ -THC. Η ανοχή όμως που αναπτύσσεται δεν είναι πλήρης ούτε παρατηρείται στον ίδιο βαθμό σε όλες τις δράσεις της  $\Delta^9$ -THC. Μέχρι και σήμερα δεν είναι γνωστό το τι αντικατοπτρίζουν οι φυσιολογικές αλλαγές σε συμπεριφορικό επίπεδο (Whitlow et al., 2003). Αν και στην παρούσα έρευνα δεν αναπτύχθηκε ανοχή σε συμπεριφορικό επίπεδο, θα ήταν ενδιαφέρον να ερευνηθούν ενδεχόμενες φυσιολογικές αλλαγές έπειτα από την χρόνια χορήγηση του WIN55,212-2.

Όπως προαναφέρθηκε, η υποκατάσταση της χρόνιας χορήγησης του WIN55,212-2 στη δόση του 1mg/kg με έκδοχο για 5 ημέρες ακολουθείται από ένα φαινόμενο εξαρτημένης ανηδονίας, το οποίο ομοιάζει με άλλες περιπτώσεις κλασικής εξαρτημένης συμπεριφοράς (Pinel, 2000). Σύμφωνα με την θεωρία της κλασικής εξαρτημένης μάθησης του Pavlov, ένα αρχικά ανεξάρτητο ερέθισμα είναι δυνατό να συνεξαρτηθεί με ένα εξαρτημένο ερέθισμα και να αποκτήσει και αυτό ιδιότητες κινήτρου. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται τόσο στον άνθρωπο όσο και στα

πρωτεύοντα θηλαστικά και στους επίμυες έπειτα από επαναλαμβανόμενη χορήγηση ψυχοτρόπων ουσιών. Έρευνες σε επίμυες έχουν δείξει ότι η παρουσία ενός ερεθίσματος συνεξαρτημένου με την κοκαΐνη οδηγεί σε μείωση της αυτο-χορήγησης κοκαΐνης σε ανάλογες δοκιμασίες (Kenny, Koob & Markou, 2003). Ανάλογες δράσεις έχουν παρατηρηθεί και μετά από την επαναλαμβανόμενη χορήγηση αμφεταμίνης (Blais & Janak, 2007).

Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης μας, το φαινόμενο της εξαρτημένης ανηδονίας βρέθηκε στατιστικά σημαντικό μόνο την δεύτερη ημέρα χορήγησης εκδόχου στην ομάδα που προηγουμένως είχαν χορηγηθεί 0.3mg/kg, ενώ στην ομάδα 0.1mg/kg δεν παρατηρήθηκε ανάλογο φαινόμενο. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι το WIN55,212-2, ενδεχομένως να λειτουργεί ως διακριτικό ερέθισμα το οποίο αποκτά συναισθηματικό σθένος.

## **2. Μελέτη Κινητικής Δραστηριότητας**

Στην παρούσα μελέτη, η χρόνια χορήγηση WIN55,212-2 στη δόση του 1mg/kg οδήγησε στην μείωση της αυθόρμητης κινητικής δραστηριότητας τόσο σε ότι αφορά τις μετακινήσεις όσο και τις ανασηκώσεις. Η μείωση αυτή παρέμεινε σταθερή στη διάρκεια των 20 ημερών. Στη δόση των 0.3mg/kg το WIN55,212-2 προκάλεσε επίσης μείωση των μετακινήσεων η οποία επίσης παρέμεινε σταθερή στο χρόνο. Αντίθετα, ο αριθμός των ανασηκώσεων βρέθηκε στατιστικά σημαντικά μειωμένος μόνο στην πρώτη μέτρηση ενώ στη δεύτερη και την τρίτη βρέθηκε ότι δεν διαφοροποιείται στατιστικά σημαντικά από το έκδοχο. Τέλος, στην ομάδα που χορηγήθηκε η δόση του 0.1mg/kg παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της κινητικής δραστηριότητας (υπερκινητικότητα) στις μετακινήσεις και στον αριθμό των ανασηκώσεων, η οποία όμως δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική.

Τα ευρήματα της μελέτης μας υποδεικνύουν ότι οι δράσεις της επαναλαμβανόμενης χορήγησης κανναβινοειδών μπορούν να χαρακτηριστούν ως ένα δοσο-εξαρτώμενο «δίπολο» καθώς σε μεγάλες δόσεις μειώνουν την κινητική δραστηριότητα με σταθερό τρόπο, χωρίς την ανάπτυξη συμπεριφορικής αντοχής, ενώ σε χαμηλές δόσεις παρουσιάζουν μια τάση αύξησης της κινητικής δραστηριότητας. Τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα συμφωνούν με το εύρημα ότι η  $\Delta^9$ -THC προκαλεί αύξηση της κινητικής συμπεριφοράς στις χαμηλές δόσεις ενώ προκαλεί μείωση στις υψηλότερες (Varvel et al., 2007). Αντίστοιχα είναι τα ευρήματα και με τους συνθετικούς

αγωνιστές των CB<sub>1</sub> υποδοχέων. Το WIN55,212-2 σε χαμηλότερες δόσεις προκαλεί αύξηση της κινητικής δραστηριότητας ενώ σε υψηλότερες δόσεις προκαλεί μείωση της κινητικής δραστηριότητας (Pandolfo et al., 2007). Κάποιοι μάλιστα υποστηρίζουν ότι η Δ<sup>9</sup>-THC σε χαμηλές δόσεις προκαλεί υπερκινητικότητα ενώ στις υψηλότερες παρουσιάζει ένα διφασικό προφίλ όπου αρχικά παρατηρείται αύξηση της κινητικής δραστηριότητας ενώ στη συνέχεια έρχεται η κατατονία. (Meyer & Quenzer, 2003). Φαίνεται λοιπόν ότι οι επιδράσεις των κανναβινοειδών στην κινητική δραστηριότητα είναι δοσο-εξαρτώμενες. Οι Muschamp & Sivity παρατηρούν μειωμένη κινητική δραστηριότητα στο ανοιχτό πεδίο δέκα ημέρες μετά το πέρας της χρόνιας χορήγησης του WIN55,212-2. Η μείωση αυτή ερμηνεύεται από τους ερευνητές ως αλλαγή τη λειτουργία του μεταχιακού ντοπαμινεργικού συστήματος η οποία ακολουθεί την απόσυρση των κανναβινοειδών (Muschamp & Sivity, 2002).

Παρ' όλα αυτά, τα ευρήματα των διαφόρων μελετών συχνά παρουσιάζονται αντικρουόμενα καθώς δεν φαίνεται να υπάρχει ομοφωνία σχετικά με τη δόση που είναι ικανή να προκαλέσει υπερκινητικότητα και την δόση που είναι ικανή να προκαλέσει υποκινητικότητα.

Σύμφωνα με την πρόσφατη έρευνα του Pandolfo και των συνεργατών του (2007), το WIN55,212-2 διεγείρει την κινητική δραστηριότητα σε μοντέλο υπερκινητικής διαταραχής (επίμυες που με εγγενή αυξημένη κινητική δραστηριότητα) στις δόσεις των 0.25 και 1.25mg/kg σε εφήβους επίμυες αλλά όχι σε ενήλικες, υποδεικνύοντας δράσεις εξαρτώμενες από την ηλικία. Το γεγονός ότι στην έρευνα αυτή το WIN55,212 ακόμα και σε μεγαλύτερες δόσεις (2.5mg/kg) απέτυχε να μειώσει την κινητική δραστηριότητα έρχεται σε αντίθεση με αρκετές προηγούμενες μελέτες. Οι ίδιοι οι ερευνητές μάλιστα επισημαίνουν ότι ο χρόνος μέτρησης της κινητικής δραστηριότητας ήταν μικρός και για τον λόγο αυτό δεν αποκλείουν το ενδεχόμενο στη συνέχεια να παρατηρείται μείωση της κινητικής δραστηριότητας. (Pandolfo et al., 2007).

Αναφορικά με τις επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης κανναβινοειδών στην κινητική δραστηριότητα, προηγούμενες μελέτες αναφέρουν την ανάπτυξη ανοχής στις επιδράσεις στην κινητική δραστηριότητα έπειτα από την επαναλαμβανόμενη χορήγηση κανναβινοειδών (Oviedo et al., 1993; Forenseca et al., 1994; Romero, Berrendero, Garcia, Ramos & Fernandez-Ruiz, 1998; Sim-Selley & Martin, 2002). Η ανοχή αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με την προς τα κάτω ρύθμιση των CB υποδοχέων

σε κινητικές περιοχές όπως τα βασικά γάγγλια και η παρεγκεφαλίδα (Romero et al., 1998; Shi, Luo, Woodward & Chang, 2005; Varvel et al., 2007).

Το γεγονός ότι με βάση τα ευρήματα της μελέτης μας δεν αναπτύχθηκε ανοχή στις επιδράσεις του WIN55,212-2 στην κινητική δραστηριότητα δεν είναι περίεργο, καθώς δεν είναι ακόμα σαφές τι ακριβώς αντικατοπτρίζουν οι φυσιολογικές αλλαγές που έχουν βρεθεί σε άλλες μελέτες σε συμπεριφορικό επίπεδο (Whitlow et al., 2003). Έτσι, ενδεχομένως ενώ συμπεριφορικά να μην παρατηρείται ανάπτυξη ανοχής είναι πιθανό να υπάρχουν αλλαγές σε επίπεδο υποδοχέων. Το ενδεχόμενο αυτό χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Συμπερασματικά, η επαναλαμβανόμενη χορήγηση του CB<sub>1</sub> αγωνιστή των υποδοχέων των κανναβινοειδών WIN55,212-2 αύξησε τον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο. Συστηματική αύξηση παρατηρήθηκε μόνο στην μεγαλύτερη δόση (1mg/kg) ενώ στη δόση των 0.3mg/kg παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση μόνο στην 7<sup>η</sup> και 8<sup>η</sup> ημέρα. Η μικρότερη δόση δεν επηρέασε τον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού. Αξίζει να αναφερθεί ότι το πιο ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας μελέτης φαίνεται να είναι το φαινόμενο της εξαρτημένης ανηδονίας το οποίο παρατηρήθηκε κυρίως στην δόση του 1mg/kg. Το εύρημα αυτό στηρίζει την υπόθεση ότι τα κανναβινοειδή θα μπορούσαν να αποκτήσουν συναισθηματικό σθένος και να λειτουργήσουν ως διακριτικό ερέθισμα για τον οργανισμό. Τα παρόντα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η χρόνια χορήγηση κανναβινοειδών δεν παρουσιάζει ενισχυτικές ιδιότητες στο πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού αλλά ούτε οδηγεί στην ανάπτυξη ανοχής ή ευαισθητοποίησης στη σχετιζόμενη με τα κανναβινοειδή συμπεριφορά ανταμοιβής.

Η επαναλαμβανόμενη χορήγηση WIN55,212-2 μείωσε την αυθόρμητη κινητική δραστηριότητα στις δύο μεγαλύτερες δόσεις (0.3, 1mg/kg). Η μείωση, μάλιστα, αυτή βρέθηκε στατιστικά σημαντική στο χρόνο. Στον αντίποδα, στη χαμηλότερη δόση (0.1mg.kg) η επαναλαμβανόμενη χορήγηση WIN55,212-2 προκάλεσε μια τάση αύξησης της αυθόρμητης κινητικής δραστηριότητας η οποία όμως δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική. Από τα ευρήματά μας προκύπτει ότι η χρόνια χορήγηση του WIN55,212-2 δεν οδήγησε στην ανάπτυξη ανοχής ή ευαισθητοποίησης ούτε στην κινητική δραστηριότητα. Συνοψίζοντας, οι επιδράσεις της επαναλαμβανόμενης χορήγησης WIN55,212-2 παρουσιάζονται διαφορετικές ανάλογα με τη δόση

χορήγησης, με τις υψηλές δόσεις να προκαλούν υποκινητικότητα και τις χαμηλές να δημιουργούν μια τάση για υπερκινητικότητα.

Συνολικά τα ευρήματα της μελέτης μας υποδεικνύουν ότι ο αγωνιστής των CB<sub>1</sub> υποδοχέων WIN55,212-2 μετά από χρόνια χορήγηση παρουσιάζει μια άτυπη εικόνα σε σύγκριση με κλασικές ουσίες εξάρτησης, καθώς δεν προκαλεί φαινόμενα αντοχής ή ευαισθητοποίησης στη συμπεριφορά ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και στην κινητική δραστηριότητα. Ενδιαφέρον είναι να διερευνηθεί αν ισχύει το ίδιο και για άλλα ανάλογα των κανναβινοειδών.

## ΣΤ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην βιβλιογραφία υπάρχουν πλείστες έρευνες που συστηματικά καταδεικνύουν ότι τα κανναβινοειδή ασκούν επιδράσεις τόσο στο κύκλωμα ανταμοιβής όσο και στην κινητική δραστηριότητα. Στην έρευνα αυτή εξετάστηκαν οι επιδράσεις της επαναλαμβανόμενης χορήγησης του συνθετικού αγωνιστή των CB<sub>1</sub> υποδοχέων WIN55,212-2 στη συμπεριφορά του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και στην αυθόρμητη κινητική δραστηριότητα. Στόχος της έρευνας αυτής ήταν να εξεταστεί αν τα κανναβινοειδή μπορούν να προκαλέσουν φαινόμενα αντοχής ή ευαισθητοποίησης παρόμοια με αυτά που προκαλούνται από άλλες ψυχοτρόπους ουσίες.

Η μελέτη της δράσης της επαναλαμβανόμενης χορήγησης κανναβινοειδών στην συμπεριφορά ανταμοιβής έγινε με την μέθοδο της μετατόπισης της καμπύλης του προτύπου ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Αρχικά χορηγήθηκε για 5 ημέρες έκδοχο. Τις 20 ημέρες χορήγησης WIN55,212-2 (1, 0.3, 0.1 mg/kg) ακολούθησαν 5 επιπρόσθετες ημέρες χορήγησης εκδόχου. Ο ουδός του εγκεφαλικού ερεθισμού μετρήθηκε τόσο πριν όσο και μετά τη χορήγηση.

Η μελέτη της κινητικής συμπεριφοράς έγινε με αυτοματοποιημένα συστήματα καταγραφής. Στα πειράματα της κινητικότητας χορηγήθηκε στους επίμυες επί 20 ημέρες WIN55,212-2 (1, 0.3, 0.1 mg/kg) και μετρήθηκε η αυθόρμητη κινητική δραστηριότητα την 1<sup>η</sup>, την 10<sup>η</sup> και την 20<sup>η</sup> ημέρα της χορήγησης.

Τα ευρήματα από τις μελέτες ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού υποδεικνύουν ότι η επαναλαμβανόμενη χορήγηση κανναβινοειδών δεν παρουσιάζει ενισχυτικές ιδιότητες αλλά ούτε φαινόμενα αντοχής ή ευαισθητοποίησης. Βρέθηκε μάλιστα ότι το WIN55,212-2 στις υψηλότερες μόνο δόσεις (1 mg/kg) αυξάνει τον ουδό του εγκεφαλικού ερεθισμού, ένα φαινόμενο που διατηρείται τουλάχιστον για 5 ημέρες ακόμα και όταν το WIN55,212-2 υποκατασταθεί με έκδοχο. Αυτό υποδεικνύει την ανάπτυξη εξαρτημένης ανηδονίας στη συγκεκριμένη δράση του WIN55,212-2, η οποία μπορεί να σηματοδοτεί κάποιο διακριτικό ερέθισμα για τα πειραματόζωα και να αποκτά κάποιο συναισθηματικό σθένος.

Στην κινητικότητα, οι δύο μεγαλύτερες δόσεις (0.3 και 1 mg/kg) μείωσαν την κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων. Αντίθετα, στην μικρότερη δόση (0.1 mg.kg) το WIN55,212-2 παρουσίασε μια τάση για αύξηση της κινητικότητας η οποία όμως δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Συνολικά τα ευρήματα της μελέτης μας υποστηρίζουν ότι η χρόνια χορήγηση του αγωνιστή των CB<sub>1</sub> υποδοχέων WIN55,212-2 δεν οδηγεί σε φαινόμενα αντοχής ή ευαισθητοποίησης, ούτε έχει ενισχυτικές δράσεις, όπως συμβαίνει με κλασικές εξαρτησιογόνους ουσίες. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με αρκετές μελέτες που υποστηρίζουν ότι τα κανναβινοειδή διαφέρουν από τις κλασικές εξαρτησιογόνους ουσίες και παρουσιάζουν μια άτυπη εικόνα.

## H. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agarwal, N., Pacher, P., Tegeder, I., Amaya, F., Constantin, E., Brenner, J., Rubino, T., Michalski, W., Marsicano, G., Monory, K., Mackie, K., Marian, C., Batkai, S., Parolaro, D., Fischer, J., Reeh, P., Kunos, G., Kress, M., Lutz, B., Woolf, J., & Kuner R. (2007). Cannabinoids Mediate Analgesia Largely via Peripheral Type 1 Cannabinoid Receptors in Nociceptors, *Nature Neuroscience*, 10, 870-879.
- Alger, B.(2004). Endocannabinoids and Their Implication for Epilepsy, *Epilepsy Currents*, 4, 169-173.
- Amar, M. (2006). Cannabinoids in Medicine: A Review of Their Therapeutic Potential, *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 1-25.
- Antoniou, K., Galanopoulos, A., Vlachou, S., Kourouli, T., Nahmias, V., Thermos, K., Panagis, G., Daifoti, Z., Marselos, M., Papahatjis, D. & Spyraiki, C.(2005). Behavioral Pharmacological Properties of a Novel Cannabinoid 1',1'-Dithiolane Delta8-THC Analog, AMG-3, *Behavioral Pharmacology*, 19, 499-510.
- Arenos, J., Musty, R. & Bucci, D. (2006). Blockade of Cannabinoid CB1 Receptors Alters Contextual Learning and Memory, *European Journal of Pharmacology*, 539, 177-183.
- Arnold, J., Hunt G. & McGregor, I. (2001). Effects of the Cannabinoid Receptor Agonist CP 55,940 and the Cannabinoid Receptor Antagonist SR 141716 on Intracranial Self-Stimulation in Lewis Rats, *Life Science*, 70, 97-108.
- Begg, M., Pacher, P., Batkai, S., Osei-Hyiaman, D., Offertaler, L., Mo, F., Liu, J. & Kunos, G. (2005). Evidence for Novel Cannabinoid Receptors, *Pharmacology & Therapeutics*, 106, 133-145.
- Berlach, D., Shir, Y. & Ware, M. (2006). Experience with the Synthetic Cannabinoid Nabilone in Chronic Noncancer Pain, *Pain Medicine*, 7, 25-29.
- Blaiss, C. & Janak, P. (2007). Post-Training, but not Post-Reactivation, Administration of Amphetamine and Anisomycin Modulates Pavlovian Conditioned Approach, *Neurobiology of Learning and Memory*, 87, 644-658.
- Breivogel, C., Childers, S., Deadwyler, S., Hampson, R., Vogt, L. & Sim-Selley, L. (1999). Chronic  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol Treatment Produces a Time-Dependent Loss of Cannabinoid Receptors and Cannabinoid Receptor-Activated G Proteins in Rat Brain, *Journal of Neurochemistry*, 73, 2447-2459.



- Chaperon, F., Soubrie, P., Puech, A. & Thiebot, M. (1998). Involvement of Central Cannabinoid (CB<sub>1</sub>) Receptors in the Establishment of Place Conditioning in Rats, *Psychopharmacology*, *135*, 324-332.
- Cheer, J., Kendall, D. & Mardsen, C. (2000). Cannabinoid Receptors and Reward in the Rat: a Conditioned Place Preference Study, *Psychopharmacology*, *151*, 25-30.
- Collin, D., Davies, P., Mutiboko, I. & Ratcliffe, S.(2007). Randomized Controlled Trial of Cannabis-Based Medicine in Spasticity Caused by Multiple Sclerosis, *European Journal of Neurology*, *14*, 290-296.
- Cravatt, B. & Lichtman, A.(2004). The Endogenous Cannabinoid System and its Role in Nociceptive Behavior, *Published Online in Wiley InterScience*, 149-161.
- DaSilva, G., Morato, G. & Takahashi, R. (2001). Rapid Tolerance to  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol and Cross-Tolerance Between Ethanol and  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol in Mice, *European Journal of Pharmacology*, *431*, 201-207.
- Deneau, G. & Kaymakcalan, S. (1971). Physiological and Psychological Dependence to Synthetic  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol (THC) in Rhesus Monkeys, *Pharmacologist*, *13*, 246-248.
- Devane, A., Dysarz, A. , Johnson , R., Melvin, S. & Howlett, C. (1988). Determination and Characterization of a Cannabinoid Receptor in Rat Brain, *Molecular Pharmacology*, *34*, 605-613.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. (1992). Isolation and Structure of a Brain Constituent that Binds to the Cannabinoid Receptor, *Science*, *258*, 1946-1949.
- De Vries, T., Shaham, Y., Homberg, J., Crombag, H., Schuurman, K., Dieben, J., Venderschuchuren, L. & Schoffelmeer, A.(2001). A Cannabinoid Mechanism in Relapse to Cocaine Seeking, *Nature Medicine*, *7*, 1151-1154.
- Di Marzo V, De Petrocellis L, Sepe N, Buono A.(1996). Biosynthesis of Anandamide and Related Acylethanolamides in Mouse J774 Macrophages and N18 neuroblastoma cells, *The Biochemical Journal*, *316*, 977-984.
- Doqqrell, S.(2005). Is the Cannabinoid CB<sub>1</sub> Receptor Antagonist Rimonabant Advancing the Treatment of Obesity?, *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *6*, 2141-2144.

- Δουρδούνη, E.(2001). *Εξαρτησιογόνες Ουσίες και Ορθόδοξη Χριστιανική Αγωγή στην Παιδική και Εφηβική Ηλικία*. Αθήνα: Αδελφοί Κυριακίδη Α.Ε.
- Drews, E., Schneider, M. & Koch, M. (2005). Effects of the Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2 on Operant Behavior and Locomotor Activity in Rats, *Pharmacology, Neurochemistry & Behavior*, 80, 145-150.
- Fadda, P., Scherma, M., Spano, MS., Salis, P., Melis, V., Fattore, L. & Fratta, W. (2006). Cannabinoid Self-Administration Increases Dopamine Release in the Nucleus Accumbens, *Neuroreport*, 17, 1629-1632.
- Fattore, L., Cossu, G., Martellotta, C. & Fratta, W. (2001). Intravenous Self-Administration of the Cannabinoid CB<sub>1</sub> Receptor Agonist WIN55,212-2 in Rats, *Psychopharmacology*, 156, 410-416.
- Ferrari, F., Ottani, A. & Giuliani, D. (1999). Influence of the Cannabinoid Agonist HU210 on Cocaine and CQP210-403 Induced Behavioural Effects in Rat, *Life Science*, 65, 823-831.
- Fillipis, D., Russo, A., Stefano, D., Maiuri, M., Esposito, G., Cinelli, M., Pietropaolo, C., Carbuccion, R., Russo, G. & Iuvone, T. (2007). Local Administration of WIN55,212-2 Reduces Chronic Granuloma-Associated Angiogenesis in Rat by Inhibiting NF-κB Activation, *Journal of Molecular Medicine*, 85, 635-645.
- Flores, G., Wood, G., Barbeau, D., Quirion, R. & Srivastana, L. (1998). Lewis and Fischer Rats: a Comparison of Dopamine Transporter and Receptors Levels, *Brain Research*, 814, 34-40.
- Frenandez-Lopez, D., Pazos, R., Tolon, R., Moro, A., Romero, J., Lizasoain, I. & Martinez-Orgado, J.(2007). The Cannabinoid Agonist WIN55,212-2 Reduces Brain Damage in an In Vivo Model of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy in Newborn Rats, *Pediatric Research*, 62, 1-6.
- Gaetani S., Cuomo, V. & Piomelli, D.(2003). Anandamide Hydrolysis: a New Target for Anti-Anxiety Drugs?, *Trends in Molecular Medicine*, 9, 474-478.
- Galve-Roperh, I., Aguado, T., Palazuelos, J. & Guzman, M. (2007). The Endocannabinoid System and Neurogenesis in Health and Disease, *Neuroscientist*, 13, 109-114.
- Gardner, E., Paredes, W., Smith, D., Donner, A, Milling, C, Cohen, D. & Morrison, D. (1988). Facilitation of Brain Stimulation Reward by Delta9-Tetrahydrocannabinol, *Psychopharmacology*, 96, 142-144.

- Gardner, E. (2002). Addictive Potential of Cannabinoids: the Underlying Neurobiology, *Chemical and Physical Lipids*, 121, 267-290.
- Green, K. (1998). Marijuana Smoking vs Cannabinoids for Glaucoma Therapy, *Arch Ophthalmology*, 116, 1433-1437.
- Gordon, E. & Devinsky, O. (2001). Alcohol and Marijuana: Effects on Epilepsy and Use by Patients with Epilepsy, *Epilepsia*, 42, 1266-1272.
- Haller, J., Varga, B., Ledent, C. & Freund, T. (2004). CB1 Cannabinoid Receptors Mediate Anxiolytic Effect: Convergent Genetic and Pharmacological Evidence with CB1-Specific Agents, *Behavioural Pharmacology*, 15, 299-304.
- Haller, J., Matyas, F., Soproni, K., Varga, B., Barsy, B., Nemeth, B., Mikics, E., Freud, T. & Hajos, N. (2007). Correlated Species Differences in the Effects of Cannabinoid Ligands on Anxiety and on GABAergic and Glutamatergic Synaptic Transmission, *European Journal of Neuroscience*, 25, 2445-2456.
- Harvey, R. & Champe, P. (1995). *Φαρμακολογία* (Παπαδόπουλος, Στ. & Παπαδόπουλος, Γ.) Αθήνα: Παρισιάνος.
- Harris, R., Waters, W., McLendon, D. (1974). Evaluation of Reinforcing Capability of Delta-9-Tetrahydrocannabinol in Rhesus Monkeys, *Psychopharmacologia*, 37, 23-29.
- Hayakawa K, Mishima K, Nozako M, Ogata A, Hazekawa M, Liu AX, Fujioka M, Abe K, Hasebe N, Egashira N, Iwasaki K, Fujiwara M. (2007). Repeated Treatment with Cannabidiol but not Delta9-Tetrahydrocannabinol has a Neuroprotective Effect without the Development of Tolerance, *Neuropharmacology*, 52, 1079-1097.
- Herkenham, M., Lynn, B., Little, D., Johnson, R., Melvin, L., de Costa, B, Rice K (1990). Cannabinoid Receptor Localization in Brain, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 1932-1936.
- Ho, J., Cox, J. & Wagner, E. (2007). Cannabinoid-Induced Hyperphagia: Correlation with Inhibition of Proopiomelanocortin Neurons?, *Physiology & Behavior*, 30, 1-13.
- Howlett, A. (2002). The Cannabinoid Receptors, *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*, 68, 619-631.
- Jackson, J., Diemel, T., Pryce, G. & Baker, D. (2005). Cannabinoids and Neuroprotection in CNS Inflammatory Disease, *Journal of Neurological Sciences*, 233, 21-25.

- Jarbe, T. & DiPatrizio, N. (2005).  $\Delta^9$ -THC Induced Hyperphagia and Tolerance Assessment: Interactions Between the CB1 Receptor Agonist  $\Delta^9$ -THC and the CB1 Receptor Antagonist SR-141716 (Rimonabant) in Rats, *Behavioural Pharmacology*, *16*, 373-380.
- Jarbe, T., Lamb, R., Liu, Q. & Makriyannis, A. (2006). Discriminative Stimulus Functions of AM-1346, a CB1R Selective Anandamide Analog in Rats Trained with  $\Delta^9$ -THC or (R)-Methanandamide (AM-356), *Psychopharmacology*, *188*, 315-323.
- Jarvinen, T., Pate, D. & Laine, K. (2002). Cannabinoids in Treatment of Glaucoma, *Pharmacology & Therapeutics*, *95*, 203-220.
- Jentsch, J., Verrico, C., Le, D. & Roth, R.H.(1998). Repeated Exposure to Delta 9-Tetrahydrocannabinol Reduces Prefrontal Cortical Dopamine Metabolism in the Rat, *Neuroscience Letters*, *246*, 169-172.
- Jordan, K., Schmoll, H. & Aapro, M.S.(2007). Comparative Activity of Antiemetic Drugs, *Critical Reviews in Oncology and Hematology*, *61*, 162-175.
- Julien, R. (2003). *Βασικές Αρχές Φαρμακολογίας* (Παναγής, Γ.). Αθήνα: Πασχαλίδης, 337-370.
- Justinova Z, Solinas M, Tanda G, Redhi GH & Goldberg SR.(2005). The Endogenous Cannabinoid Anandamide and its Synthetic Analog R(+)-Methanandamide are Intravenously Self-Administered by Squirrel Monkeys, *The Journal of Neuroscience*, *25*, 5645-5650.
- Justinova, Z., Tanda, G., Redhi, GH. & Goldberg, SR. (2003). Self-Administration of Delta9-Tetrahydrocannabinol (THC) by Drug Naive Squirrel Monkeys, *Psychopharmacology*, *169*, 134-140.
- Kenny, P., Koob, G. & Markou, A. (2003). Conditioned Facilitation of Brain Reward Function After Repeated Cocaine Administration, *Behavioral Neuroscience*, *117*, 1103-1107.
- Kolb, B., Gorny, G., Limebeer, C. & Parker, L. (2006). Chronic Treatment with D9-Tetrahydrocannabinol Alters the Structure of Neurons in the Nucleus Accumbens Shell and Medial Prefrontal Cortex of Rats, *Synapse*, *60*, 429-436.
- Lastres-Becker, I., Bizat, N., Boyer, F., Hantraye, P., Brouillet, E. & Fernández-Ruiz, J. (2003). Effects of Cannabinoids in the Rat Model of Huntington's Disease Generated by an Intrastratial Injection of Malonate, *Neuroreport*, *14*, 813-817.

- Lawston, J., Borella, A., Robinson, J. & Whitaker-Azmitia (2000). Changes in Hippocampal Morphology Following Chronic Treatment With the Synthetic Cannabinoid WIN55,212-2, *Brain Research*, 877, 407-410.
- Leite, J. & Carlini, E. (1974). Failure to Obtain "Cannabis-Directed Behavior" and Abstinence Syndrome in Rats Chronically Treated with Cannabis Sativa Extracts, *Psychopharmacologia*, 36, 133-145.
- Leker, R., Mechoulam, R. & Ovadia, H. (2003). Drug-Induced Hypothermia Reduces Ischemic Damage: Effects of the Cannabinoid HU-210, *Stroke*, 34, 2000-2006.
- Lepore, M., Vorel, S., Lowinson, J. & Gardner, E. (1995). Conditioned Place Preference Induced by  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol: Comparison with Cocaine, Morphine and Food Reward, *Life Sciences*, 56, 2073-2080.
- Lepore, M., Liu, X., Savage, V., Matalon, D. & Gardner, E. (1996). Genetic Differences in  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol- Induced Facilitation of Brain Stimulation Reward as Measured by a Rate-Frequency Curve-Shift Electrical Brain Stimulation Paradigm in Three Different Rats Strains, *Life Sciences*, 58, 365-372.
- Liang, Y., Huang, C. & Hsu, K. (2007). The Synthetic Cannabinoids Attenuate Allodynia and Hyperalgesia in a Rat Model of Trigeminal Neuropathic Pain, *Neuropharmacology*, 20, 1-9.
- Lichtman, A. & Martin, B. (2002). Marijuana Withdrawal Syndrome in the Animal Model, *Journal of Clinical Pharmacology*, 42, 20-27.
- Lichtman, A. & Martin, B. (2005). Cannabinoid Tolerance and Dependence, *Hep*, 168, 691-717.
- Lynn, A. & Herkenham M. (1994). Localization of Cannabinoid Receptors and Nonsaturable High-Density Cannabinoid Binding Sites in Peripheral Tissues of the Rat: Implications for Receptor-Mediated Immune Modulation by Cannabinoids, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268, 1612-1633.
- Maldonado, R. (2002). Study of Cannabinoid Dependence in Animals, *Pharmacological Therapeutics*, 95, 153-164.
- Maldonado, R. & Fonseca, R. (2002). Cannabinoid Addiction: Behavioral Model and Correlates, *The Journal of Neuroscience*, 22, 3326-3331.

- Mallet, P. & Beninger, R.J. (1998). Delta9-Tetrahydrocannabinol, but not the Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand Anandamide, Produces Conditioned Place Avoidance, *Life Sciences*, 26, 2431-2439.
- Martellotta, M., Cossu, G., Fattore, L., Gessa, G. & Fratta, W. (1998). Self-Administration of the Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2 in Drug-Naive Mice, *Neuroscience*, 85, 327-330.
- Marzo, V. (2006). A Brief History of Cannabinoids and Endocannabinoid Pharmacology as Inspired by the Work of British Scientists, *Trends in Pharmacological Sciences*, 27, 134-141.
- Mas-Nieto M, Pommier B, Tzavara ET, Caneparo A, Da Nascimento S, Le Fur G, Roques BP, Noble F.(2001). Reduction of Opioid Dependence by the CB(1) Antagonist SR141716A in Mice: Evaluation of the Interest in Pharmacotherapy of opioid addiction, *British Journal of Pharmacology*, 132, 1809-1816.
- Matsuda, L., Lolait, S., Brownstein, M., Young, A., Bonner, T. (1990). Structure of a Cannabinoid Receptor and Functional Expression of the Cloned cDNA, *Nature*, 9, 561-564.
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N., Schatz, A., Gopher, A., Almog, S., Martin BR. & Compton DR (1995). Identification of an Endogenous 2-Monoglyceride, Present in Canine Gut, that Binds to Cannabinoid Receptors, *Biochemical Pharmacology*, 50, 83-90.
- Meyer, J. & Quenzer, L. (2005). *Psychopharmacology, Drugs, the Brain and Behavior*. Massachusetts: Sinamen Associates.
- Molina-Holgado, F., Pinteaux, E., Heenan, L., Moore, JD., Rothwell, NJ. & Gibson RM.(2005). Neuroprotective Effects of the Synthetic Cannabinoid HU-210 in Primary Cortical Neurons are Mediated by Phosphatidylinositol 3-Kinase/AKT Signalling, *Molecular and Cellular Neuroscience*, 28, 189-194.
- Moreira, F., Aguiar, D. & Guimaraes, F. (2006). Anxiolytic-Like Effect of Cannabidiol in the Rat Vogel Conflict Test, *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30, 1466-1471.
- Munro, S., Thomas, K. & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular Characterization of a Peripheral Receptor for Cannabinoids, *Nature*, 2, 61-65.
- Muschamp, J. & Sivity, S. (2002). Behavioral Sensitization to Amphetamine Follows Chronic Administration of CB1 Agonist WIN55,212-2 in Lewis Rats, *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*, 73, 835-842.

- Nallapaneni, A., Liu, J., Karanth, S. & Pope, C. (2006). Modulation of Paraoxon Toxicity by the Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2, *Toxicology*, 227, 173-183.
- Navarro, M., Carrera, M., Fratta, W., Valverde, O., Cossu, G., Fattore, L., Chowen, J., Gomez, R., Arco, I., Villanua, M., Maldonado, R., Koob, G. & Rodriguez de Fonseca, F. (2001). Functional Intreaction Between Opioid and Cannaboid Receptors in Drug Self-Administration, *Journal of Neuroscience*, 21, 5344-5350.
- Oviedo, A., Glowa, J. & Herkenham, M. (1993). Chronic Cannabinoid Administration Alters Cannabinoid Receptor Binding in Rat Brain: a Quantitative Autoradiographic Study, *Brain Research*, 616, 293-302.
- Page ME, Oropeza VC, Sparks SE, Qian Y, Menko, AS & Van Bockstaele EJ. (2007). Repeated Cannabinoid Administration Increases Indices of Noradrenergic Activity in Rats, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 86, 162-168.
- Παναγής, Γ. (2002). Βιοψυχολογία της Ενίσχυσης: Μελέτες Ενδοκρανιακού Αυτοερεθισμού και ο Ρόλος της Ντοπαμίνης, *Ψυχολογία*, 9, 92-115.
- Παναγής, Γ. (2002b). *Νευροεπιστήμη της Συμπεριφοράς*. Αθήνα: Πασχαλίδης, 129-130.
- Παναγής, Γ. & Καστελλάκης, Α. (2006). Ενδογενές Σύστημα Κανναβινοειδών: Νέοι Ορίζοντες στη Θεραπευτική, *Επιθεώρηση Κλινικής Φαρμακολογίας & Φαρμακοκινητικής*, 24, 73-89.
- Pandolfo, P., Pamplona, F., Prediger, R. & Takahashi, R. (2007). Increased Sensitivity of Adolescent Spontaneously Hypertensive Rats, as Animal Model of Attention Deficit Hyperactivity Disorder to the Locomotor Stimulation Induced by the Cannabinoid Receptor Agonist WIN55,212-2, *European Journal of Pharmacology*, 563, 141-148.
- Pertwee, R. (2005). Inverse Agonism and Neutral Antagonism at Cannabinoid CB1 Receptors, *Life Sciences*, 76, 1307-1324.
- Pinel, J. (2000). *Biopsychology*. Boston: Pearson Education Company, 349.
- Piomelli, D., Giuffrida, A., Calignano, A. & Fonseca, F. (2000). The Endocannabinoid System as a Target for Therapeutic Drugs, *TiPS*, 21, 218-225.
- Ramirez, B., Blazquez, C., Gomez del Pulgar, T., Guzman, M. & Ceballos, M. (2005). Prevention of Alzheimer's Disease Pathology by Cannabinoids: Neuroprotection Mediated by Blockade of Microglial Activation, *The Journal of Neuroscience*, 23, 1904-1913.

- Robinson, L., Hinder, L., Pertwee, R.G. & Riedel, G. (2003). Effects of Delta9-THC and WIN-55,212-2 on Place Preference in the Water Maze in Rats, *Psychopharmacology*, *166*, 40-50.
- Robson, P. (2001). Therapeutic Aspects of Cannabis and Cannabinoids, *British Journal of Psychiatry*, *178*, 107-115.
- Rodgers, R., Evans, P. & Murphy, A. (2005). Anxiogenic Profile of AM-251, a Selective Cannabinoid CB1 Receptor Antagonist, in Plus-Maze-Naïve and Plus-Maze-Experienced Mice, *Behavioural Pharmacology*, *16*, 405-413.
- Rodriguez de Fonseca, R., Gorriti, M., Fernandez-Ruiz, J., Palomo, T. & Ramos, J. (1994). Downregulation of Rat Brain Cannabinoid Binding Sites After Chronic  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol Treatment, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *47*, 73-80.
- Romero, J., Garcia-Palomero, E., Castro, J., Garcia-Gil, L., Ramos, J. & Fernandez-Ruiz, J. (1997). Effects of Chronic Exposure to  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol on Cannabinoid Receptor Binding and mRNA Levels in Several Rat Brain Regions, *Molecular Brain Research*, *46*, 100-108.
- Romero, J., Berrendero, F., Garcia-Gil, L., Lin, S., Ramos, J. & Fernandez-Ruiz, J. (1998). Cannabinoid Receptor and WIN55,212-2-Stimulated [ $^{35}$ S]GTP $\gamma$ S Binding and Cannabinoid Receptor mRNA Levels in the Basal Ganglia and the Cerebellum of Adult Male Rats Chronically Exposed to Delta9-Tetrahydrocannabinol, *Journal of Molecular Neuroscience*, *11*, 109-119.
- Romero, J., Berrendero, F., Garcia-Gil, L., Lin, S., Makriyannis, A., Ramos, J. & Fernandez-Ruiz, J. (1999). Cannabinoid Receptor and WIN55,212-2-Stimulated [ $^{35}$ S]GTP $\gamma$ S Binding and Cannabinoid Receptor mRNA Levels in Several Brain Structures of Adult Male Rats Chronically Exposed to R-Methanandamide, *Neurochemistry International*, *34*, 473-482.
- Romero, J., Garcia, L., Fernandez-Ruiz, J., Cebeira, M. & Ramos, J. (1995). Changes in Rat Brain Cannabinoid Binding Sites After Acute or Chronic Exposure to Their Endogenous Agonist, Anandamide, or to  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *51*, 731-737.
- Rubino, T., Viganò, D., Costa, B., Colleoni, M. & Parolaro, D. (2000). Loss of Cannabinoid-Stimulated Guanosine 5'-O-(3-[ $^{35}$ S]Thiotriphosphate) Binding Without Receptor Down-Regulation in Brain Regions of Anandamide-Tolerant Rats, *Journal of Neurochemistry*, *75*, 2478-2484.



- Rubino, T., Vigano, D., Zagato, E., Sala, M. & Parolaro, D. (2000). In Vivo Characterization of the Specific Cannabinoid Receptor Antagonist, SR141716A: Behavioral and Cellular Responses After Acute and Chronic Treatment, *Synapse*, 35, 8-14.
- Schatz, A., Lee, M., Condie, R., Pulaski, J. & Kaminski, N. (1997). Cannabinoid Receptors CB1 and CB2: A Characterization of Expression and Adenylate Cyclase Modulation within the Immune System, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142, 278-287.
- Schlicker, E. & Kathmann M. (2001). Modulation of Transmitter Release via Presynaptic Cannabinoid Receptors, *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, 565-572.
- Schneider, M. & Koch, M. (2005). Deficient Social and Play Behavior in Adult Rats after Neonatal Cortical Lesion: Effects of Chronic Pubertal Cannabinoid Treatment, *Neuropsychopharmacology*, 30, 944-957.
- Schramm-Sapyta, N., Cha, Y., Chaudhry, S., Wilson, W., Swartzwelder, S. & Kuhn, C. (2007). Differential Anxiogenic, Aversive and Locomotor Effects of THC in the Adolescent and Adult Rats, *Psychopharmacology*, 191, 867-877.
- Sheerin, A., Zhang, X., Saucier, D. & Corcoran, M. (2004). Selective Antiepileptic Effects of N-Palmitoylethanolamide, a Putative Endocannabinoid, *Epilepsia*, 45, 1184-1188.
- Shi, X. & McGunty, J. (2007). Repeated Amphetamine Treatment Increases Phosphorylation of Extracellular Signal-Regulated Kinase, Protein Kinase B, and Cyclase Response Element-Binding Protein in the Rat Striatum, *Journal of Neurochemistry*, 10, 1-8.
- Shi, L., Luo, F., Woodward, D. & Chang, J. (2005). Dose and Behavioral Context Dependent Inhibition of Movement and Basal Ganglia Neural Activity by Delta-9-Tetrahydrocannabinol during Spontaneous and Treadmill Locomotion Tasks in Rats, *Synapse*, 55, 1-16.
- Sim-Selley, L. & Martin, B. (2002). Effect of Chronic Administration of R-(+)-[1,2,3-de]-1,4-Benzoxazinyl-(1-Naphthalenyl) Methanone Mesylate (WIN55,212-2) or  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol on Cannabinoid Receptor Adaptation in Mice, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303, 36-44.

- Singer, M., Gregor, I. & Mallet, P. (2005). Repeated Exposure to  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol Alters Heroin-Induced Locomotor Sensitisation and Fos-Immunoreactivity, *Neuropharmacology*, *49*, 1189-1200.
- Solinas, M., Tanda, G., Justinova, Z., Wertheim, C., Yasar, S., Piomelli, D., Vadivel, S., Makriyannis, A. & Goldberg, S. (2007). The Endogenous Cannabinoid Anandamide Produces  $\delta$ -9-Tetrahydrocannabinol-Like Discriminative and Neurochemical Effects that are Enhanced by Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase but not by Inhibition of Anandamide Transport, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *21*, 370-380.
- Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., Yamashita A. & Waku, K.(1995). 2-Arachidonoylglycerol: a Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *215*, 89-97.
- Takahashi, R., Pamplona, F. & Fernandes, M. (2005). The Cannabinoid Antagonist SR141716A Facilitates Memory Acquisition and Consolidation in the Mouse Elevated T-Maze, *Neuroscience Letters*, *380*, 270-275.
- Tanda, G., Munzar, P. & Goldberg, S. (2000). Self-Administration Behavior is Maintained by Psychoactive Ingredient of Marijuana in Squirrel Monkeys, *Natur Neuroscience*, *3*, 1073-1074.
- Tanda, G. & Goldberg, S. (2003). Cannabinoids: Reward, Dependence and Underlying Neurochemical Mechanisms: a Review of Recent Preclinical Data, *Psychopharmacology*, *169*, 115-134.
- Τζαφφη,Τ., Πήτερσον,Ρ.& Χόντσον,Ρ.(1980).*Ναρκωτικά-Τσιγάρο-Αλκοόλ* (Μαράτου, Ο.& Σόλμαν,Μ.). Αθήνα: Ψυχογιός.
- Valjent, E. & Maldonado, R. (2000). A Behavioral Model to Reveal Place Preference to Delta9-Tetrahydrocannabinol in Mice, *Psychopharmacology*, *147*, 436-438.
- Varvel, S., Martin, B. & Lichtman, A. (2007). Lack of Behavioral Sensitization after Repeated Exposure to THC in Mice and Comparison to Methamphetamine, *Psychopharmacology*, article in press.
- Vlachou, S., Nomikos, GG. & Panagis, G. (2003). WIN55,212-2 Decreases the Reinforcing Actions of Cocaine Through CB<sub>1</sub> Cannabinoid Receptor Stimulation, *Behavioral Brain Research*, *141*, 215-222.

- Vlachou, S., Nomikos, GG. & Panagis, G. (2005). CB<sub>1</sub> Cannabinoid Receptor Agonists Increase Intracranial Self-Stimulation Thresholds in the Rat, *Psychopharmacology*, *179*, 498-508.
- Vlachou, S., Nomikos, GG. & Panagis, G. (2006). Effects of Endocannabinoid Neurotransmission Modulators on Brain Stimulation Reward, *Psychopharmacology*, *188*, 293-305.
- Vlachou, S., Nomikos, GG., Stephens, D. & Panagis, G. (2007). Lack of Evidence for Appetitive Effects of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol in the Intracranial Self-Stimulation and Conditioned Place Preference Procedures in Rodents, *Behavioural Pharmacology*, *18*, 311-319.
- Wallace, M., Blair, R., Falenski, K., Martin, B. & Delorenzo, R. (2003). The Endogenous Cannabinoid System Regulates Seizure Frequency and Duration in a Model of Temporal Lobe Epilepsy, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *307*, 129-137.
- Whitlow, C., Freedland, C. & Porrino, L. (2003). Functional Consequences of the Repeated Administration of  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol in the Rat, *Drug and Alcohol Dependence*, *71*, 169-177.
- Williams, M. & Kirkham, C. (1999). Anandamide Induces Overeating: Mediation by Central Cannabinoid (CB<sub>1</sub>) Receptors, *Psychopharmacology*, *143*, 315-317.
- Williams, C., Rogers, P. & Kirham, T. (1998). Hyperphagia in Pre-Fed Rats Following Oral  $\Delta_9$ -THC, *Physiology & Behavior*, *65*, 343-346.
- Wu, X. & French, E. (2000). Effects of Chronic Delta9-Tetrahydrocannabinol on Rat Midbrain Dopamine Neurons: an Electrophysiological Assessment, *Neuropharmacology*, *37*, 391-398.
- Xu, H., Cheng, C., Chen, M., Manlvannan, A., Cabay, L., Pertwee, R., Coutts, A. & Forrester, J. (2007). Anti-Inflammatory Property of the Cannabinoid Receptor-2-Selective Agonist JWH-133 in a Rodent Model of Autoimmune Uveoretinitis, *Journal of Leukocyte Biology*, *82*, 1-10.
- Yang, P., Swann, A. & Dafny, N. (2006). Chronic Methylphenidate Modulates Locomotor Activity and Sensory Evoked Responses in the VTA and NAc of Freely Behaving Rats, *Neuropharmacology*, *51*, 546-556.
- Zangen, A., Solinas, M., Ikemoto, S., Goldberg, S. & Wise, R. (2006). Two Brain Sites for Cannabinoid Reward, *Journal of Neuroscience*, *26*, 4901-4907.

Zuardi, A. (2006). A History of Cannabis as a Medicine: a Review, *Review Brazilian Psiquiatry*, 28, 153-157.