

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΨΥΧΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Θέμα: Διαγενεακές επιδράσεις της Δ⁹-THC στις κινητικές και ενισχυτικές δράσεις της Δ⁹-THC και της αμφεταμίνης.



Ονοματεπώνυμο: Πιτσιλής Γεώργιος (Α.Μ:2925), Σπυριδάκος Δημήτριος (Α.Μ:2870)

Επιβλέπων Καθηγητής: Παναγής Γεώργιος

Ρέθυμνο, 2016

Περιεχόμενα

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
2.1. Ιστορική αναδρομή της εμφάνισης και της χρήσης της κάνναβης.....	5
2.1.1. Πριν το χριστιανισμό.....	5
2.1.2. Ξεκίνημα του χριστιανισμού έως τον 18 ^ο αιώνα.....	6
2.1.3. 19 ^ο ς και 20 ^ο ς αιώνας	7
2.2. Ιστορική αναδρομή της εμφάνισης και της χρήσης της αμφεταμίνης.....	9
2.3. Νευροψυχοφαρμακολογία της κάνναβης.....	10
2.4. Νευροψυχοφαρμακολογία της αμφεταμίνης	12
2.5. Επιδράσεις της Δ ⁹ -THC στην κινητικότητα.....	14
2.6. Επιδράσεις της αμφεταμίνης στην κινητικότητα.....	15
2.7. Επιδράσεις της Δ ⁹ -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό.....	18
2.8. Επιδράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό	19
2.9. Αλληλεπιδράσεις της Δ ⁹ -THC με την αμφεταμίνη	21
2.10. Επιγενετική.....	24
2.10.1. Επιγενετικοί μηχανισμοί	25
2.10.2. Επιγενετική και εθιστικές ουσίες	26
2.11. Διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα.....	27
2.12. Διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και εθιστικές ουσίες.....	29
2.12.1. Αλκοόλ.....	30
2.12.2. Νικοτίνη.....	34
2.12.3. Κοκαΐνη.....	36
2.12.4. Οπιοειδή.....	38
2.12.5. Κάνναβη	41
3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	44
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	45
4.1. Ζώα και συνθήκες διαβίωσης	45
4.2. Φάρμακα και χορηγήσεις	45
4.3. Ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση Δ ⁹ -THC στα F0 θηλυκά	45
4.4. F1 πειραματόζωα	46
4.5. Στερεοταξική χειρουργική.....	46
4.6. Ενδοκρανιακός αυτοερεθισμός	47
4.7. Μελέτη της κινητικής δρατηριότητας.....	49

4.8. Στατιστική ανάλυση	50
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	52
5.1. Πείραμα 1α: Μελέτη της εξοικείωσης (habituation) και της αντίδρασης σε ένα νέο περιβάλλον (novelty) των F1 επίμυων.....	52
5.2. Πείραμα 1β: Μελέτη της κινητικής δραστηριότητας των F1 επίμυων που έλαβαν Δ^9 -THC.	54
5.3. Πείραμα 1γ: Μελέτη της κινητικής δραστηριότητας των F1 επίμυων που έλαβαν αμφεταμίνη.	57
5.4. Πείραμα 2α: Μέτρηση των παραμέτρων της εκπαίδευσης του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.	60
5.5. Πείραμα 2β: Μελέτη των επιδράσεων της Δ^9 -THC στον ουδό και στην ασύμπτωτο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.....	63
5.6. Πείραμα 2γ: Μελέτη των επιδράσεων της αμφεταμίνης στον ουδό και στην ασύμπτωτο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.....	68
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	84

1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια ένα μεγάλο μέρος των ερευνών έχει επικεντρωθεί στη μελέτη των αλλαγών που μπορεί να προκαλέσει η χρήση πολλών εθιστικών ουσιών πριν την εγκυμοσύνη στην πλαστικότητα και κατ'επέκταση στη συμπεριφορά των μελλοντικών γενεών. Η παρούσα εργασία σκοπό έχει να ερευνήσει αν η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμους κατά την εφηβεία τους μπορεί να προκαλέσει διαγενεακές επιδράσεις στις κινητικές και ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης. Για να επιτευχθεί αυτό, θηλυκοί Spargue Dawley επίμους έλαβαν κατά τις μεταγεννητικές ημέρες 28-50 είτε Δ^9 -THC (0.1 και 1 mg/kg) είτε το έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH) και κατά τις μεταγεννητικές ημέρες 65-69, τοποθετήθηκαν για ζευγάρωμα με ελεύθερα από το φάρμακο αρσενικά. Εν συνεχεία οι αρσενικοί απόγονοι αυτών των θηλυκών ελέγχθηκαν σε ειδικούς κλωβούς με φωτοκύτταρα για πιθανές αλλαγές στην κινητικότητά τους με τη χορήγηση είτε Δ^9 -THC είτε αμφεταμίνης, ενώ ελέγχθηκαν επίσης για πιθανές αλλαγές στις ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης με το πρότυπο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Τα αποτελέσματα από την μελέτη της κινητικότητας έδειξαν αντιστροφή της προκαλούμενης από τις δόσεις 0.5 και 1 mg/kg της Δ^9 -THC υποκινητικότητας, οι οποίες προκάλεσαν υπερκινητικότητα στους επίμους των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει THC (0.1 και 1mg/kg). Τα αποτελέσματα από τον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, έδειξαν αναστολή της ενισχυτικής δράσης της δόσης 0.1 της Δ^9 -THC στους επίμους των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC κατά την εφηβεία τους. Επίσης όσον αφορά την αμφεταμίνη τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ενισχυτική δράση που έχει η αμφεταμίνη σε δόσεις 0.5 και 1 mg/kg, ήταν σημαντικά μειωμένη στους επίμους των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC (0.1 και 1 mg/kg). Συμπερασματικά τα παραπάνω αποτελέσματα προτείνουν ότι η μητρική έκθεση στην Δ^9 -THC μπορεί να προκαλέσει διαγενεακές επιδράσεις στους αρσενικούς απογόνους, οι οποίες σχετίζονται με αντιστροφή της επίδρασης που έχει η Δ^9 -THC στην κινητικότητα καθώς και με μείωση των ενισχυτικών δράσεων της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης. Ουσιαστικά δηλαδή τα αποτελέσματά μας προτείνουν μηχανισμούς, οι οποίοι είναι σε θέση να αντιστρέψουν τις επιδράσεις της Δ^9 -THC στην κινητικότητα, καθώς και μηχανισμούς που εμπλέκονται στην καταστολή των ενισχυτικών δράσεων της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης.

2.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

2.1. Ιστορική αναδρομή της εμφάνισης και της χρήσης της κάνναβης

2.1.1. Πριν το χριστιανισμό

Η κάνναβη ή μαριχουάνα, προέρχεται από ένα φυτό, το οποίο φύεται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές. Το φυτό αυτό περιλαμβάνει τρεις γνωστές ποικιλίες, οι οποίες είναι η *Cannabis Sativa*, η *Cannabis indica* και η *Cannabis rudelaris*, από τις οποίες η ποικιλία *Cannabis indica* θεωρείται η πλουσιότερη σε δραστικά συστατικά, ενώ η πιο γνωστή από αυτές είναι η ποικιλία *Cannabis sativa* (Μαρσέλος, 2004).

Η *Canabis sativa*, είναι ανάμεσα στα πρώτα φυτά που καλλιεργήθηκαν από τον άνθρωπο. Αρχαιολογικές και ιστορικές πηγές αναφέρουν τη χρήση της κάνναβης για την κατασκευή ινών για ρούχα και σχοινιά από τους κινέζους το 4.000 π.Χ. (Li, 1973). Αναλυτικότερα οι κινέζοι χρησιμοποιούσαν τα στελέχη του φυτού ευρέως στην υφαντουργία για την κατασκευή υφασμάτων, αλλά τη χρησιμοποιούσαν επίσης για την κατασκευή χαρτιού και σχοινιών, ιδιαίτερα κατά την περίοδο της δυναστείας των Χαν (Li, 1973). Επίσης ιστορικές πηγές αναφέρουν τη χρήση των καρπών της κάνναβης ως τροφής στην Κίνα, με τις πρώτες ενδείξεις αυτής της χρήσης να προέρχονται από τη χρονική περίοδο της δυναστείας των Χαν , ενώ ακόμα και σήμερα οι καρποί της κάνναβης χρησιμοποιούνται για την κατασκευή μαγειρικού λαδιού στο Νεπάλ (Touw, 1981).

Παράλληλα ήδη από το 2.700 π.Χ., οι αρχαίοι κινέζοι χρησιμοποιούσαν την κάνναβη για θεραπευτικούς σκοπούς για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών όπως στους ρευματικούς πόνους, στη δυσκοιλιότητα, σε διαταραχές του αναπαραγωγικού συστήματος των γυναικών, στην ελονοσία και σε άλλες διαταραχές (Touw, 1981). Οι αρχαίοι κινέζοι χρησιμοποιούσαν τους καρπούς της κάνναβης για φαρμακευτικούς σκοπούς, ενώ ακόμα και σήμερα ορισμένοι κινέζοι, οπαδοί της εναλλακτικής ιατρικής, χρησιμοποιούν την κάνναβη ως καθαρτικό (Touw, 1981). Σήμερα είναι γνωστό ότι οι καρποί του φυτού περιέχουν μικρή ποσότητα Δ^9 -τετραυδροκανναβινόλης (Δ^9 -THC), του κύριου δραστικού συστατικού της κάνναβης. Είναι επίσης γνωστό ότι η Δ^9 -THC συντίθεται από λιπαρά οξέα και πρωτεΐνη και αυτά τα λιπαρά οξέα θεωρείται ότι έχουν θεραπευτικά οφέλη, όπως είναι το γ -λινολεϊκό οξύ, του οποίου η τοπική χρήση θεραπεύει το έκζεμα και την ψωρίαση, ενώ η από του στόματος χορήγησή του ενδείκνυται για την ανακούφιση των συμπτμάτων της αθηροσκλήρωσης, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και άλλων φλεγμονωδών νόσων (Zuardi, 2006).

Η πρώτη χρήση της κάνναβης για τις ψυχοδραστικές της ιδιότητες αναφέρεται σε αρχαία κινεζικά κείμενα, όπου η κάνναβη χρησιμοποιούταν ως ψευδαισθησιογόνο και η χρήση της συνδεόταν άμεσα με τον σαμανισμό, τη θρησκεία της πλειοψηφίας των ανθρώπων στην κεντρική Ασία (Zuardi, 2006). Ωστόσο με την άνοδο της δυναστείας των Χαν τόσο οι πρακτικές του σαμανισμού, όσο και η χρήση της κάνναβης για την βίωση των ψυχοδραστικών ιδιοτήτων, που ήταν συνδεδεμένη με τις

πρακτικές του σαμανισμού, απαγορεύτηκαν στην Κίνα και η χρήση της κάνναβης συνεχίστηκε μόνο από ορισμένες βόρειες νομαδικές φυλές, οι οποίες πιθανόν συνέβαλαν στην εξάπλωση της χρήσης της κάνναβης στην κεντρική και δυτική Ασία και στην Ινδία (Zuardi, 2006).

Στην Ινδία η χρήση της κάνναβης έγινε γνωστή για θρησκευτικούς και ιατρικούς λόγους στο 1.000 π.Χ. Στην ιατρική πρακτική η κάνναβη χρησιμοποιήθηκε ευρέως ως αναλγητικό, ως αντισπασμωδικό, υπνωτικό, αγχολυτικό, αναισθητικό, αντιφλεγμονώδες, αντιβιοτικό, αντιπαρασιτικό, διουρητικό, ενώ χρησιμοποιούταν επίσης και ως διεγερτικό της όρεξης αλλά και για της αφροδισιακές της ιδιότητες (Mikuriya, 1969). Οι Ινδοί επίσης γνώριζαν πολύ καλά τις ψυχοδραστικές ιδιότητες του φυτού και το χρησιμοποιούσαν για αυτό το λόγο, ενώ η χρήση του ήταν στενά συνδεδεμένη με τη θρησκεία, αφού είχαν προσδώσει στο φυτό ιερές αρετές, εξαιτίας του ευφορικού αποτελέσματος που προκαλούσε (Mikuriya, 1969).

Ιστορικές πηγές αναφέρουν επίσης τη χρήση της κάνναβης από τους Ασσύριους, οι οποίοι γνώριζαν πολύ καλά τις ψυχοδραστικές και ευφορικές ιδιότητες της κάνναβης και την χρησιμοποιούσαν ως θυμίαμα σε ιερές τελετές ήδη από τον 9^ο αιώνα π.Χ. (Touw, 1981). Επιπλέον οι Ασσύριοι χρησιμοποιούσαν την κάνναβη ευρέως για την θεραπεία πρηξιμάτων και μολώπων, στη σεξουαλική ανικανότητα, στην θεραπεία της αρθρίτιδας και των πετρών στα νεφρά, καθώς επίσης και για την «θεραπεία» της μαγείας (Mikuriya, 1969). Στην Περσία γνώριζαν επίσης από πολύ παλιά για την κάνναβη και ειδικότερα γνώριζαν τις διφασικές ιδιότητές της, δηλαδή το γεγονός ότι η χρήση της προκαλούσε ευφορικό αποτέλεσμα, ενώ η διακοπή της χρήσης της προκαλούσε στο άτομο δυσφορία (Touw, 1981).

Στην Ευρώπη αναφέρεται η χρήση της κάνναβης πριν την γέννηση του Χριστού. Αναλυτικότερα η κάνναβη διαδόθηκε στην Ευρώπη από τους Σκύθες, έναν λαό που εισέβαλε από την κεντρική Ασία στην Μεσόγειο (Uzych, 1999). Ο Ηρόδοτος το 450 π.Χ. περιέγραψε μια τελετή κήδευσης των Σκυθών κατά τη διάρκεια της οποίας εισέπνεαν τους καπνούς από καιόμενους σπόρους κάνναβης, με σκοπό να αισθανθούν ευφορία (Uzych, 1999). Η χρήση της κάνναβης από τους Ρωμαίους και τους αρχαίους Έλληνες ήταν περιορισμένη, καθώς ιστορικές πηγές αναφέρουν τη χρήση χυμού προερχόμενου από τους σπόρους κάνναβης για την αντιμετώπιση των πόνων στα αυτιά και για την εξαγωγή διάφορων ζωυφίων που εισερχόντουσαν στα αυτιά (Uzych, 1999).

2.1.2. Ξεκίνημα του χριστιανισμού έως τον 18^ο αιώνα

Αυτή την περίοδο, όπου ο χριστιανισμός ξεκίνησε να εξαπλώνεται, η χρήση της κάνναβης συνεχίστηκε σε μεγάλο βαθμό στην Ινδία και από εκεί εξαπλώθηκε στη Μέση Ανατολή και στην Αφρική. Στις αραβικές χώρες της Μέσης Ανατολής η κάνναβη χρησιμοποιήθηκε στην ευρέως θεραπευτική πρακτική ως διουρητικό, ως χωνευτικό και για την ανακούφιση των πόνων στα αυτιά (Uzych, 1999). Στην Αφρική η χρήση της κάνναβης έγινε γνωστή ήδη από τον 15^ο αιώνα π.Χ. και πιθανόν να έγινε γνωστή εκεί από εμπόρους προερχόμενους από τη Μέση Ανατολή. Επίσης στην

Αφρική έγινε γνωστή η χρήση της κάνναβης για την αντιμετώπιση διαφόρων προβλημάτων υγείας, όπως στην αντιμετώπιση των δαγκωμάτων από φίδι, στην ανακούφιση των πόνων της γέννας, στην ελονοσία, στον πυρετό, στη δηλητηρίαση του αίματος, στο άσθμα, καθώς και στην αντιμετώπιση της δυσπεψίας (Zuardi, 2006).

Στην Αμερική, η χρήση της κάνναβης ξεκίνησε στη νότια Αμερική τον 16^ο αιώνα μ.Χ, όπου την έφεραν μαζί τους οι σκλάβοι από την Αφρική και οι χρήση της ήταν αρκετά κοινή ανάμεσα στους σκλάβους της Αφρικής, οι οποίοι τη χρησιμοποιούσαν τόσο για το ευφορικό της αποτέλεσμα, όσο και για τα θεραπευτικά της οφέλη σε διάφορα προβλήματα υγείας (De Pinho, 1975).

Στην Ευρώπη αυτής της χρονικής περιόδου η κάνναβη καλλιεργούνταν συστηματικά με σκοπό την κατασκευή ινών για ρούχα και σχοινιά και για την κατασκευή χαρτιού. Η διάδοση της κάνναβης έγινε πιθανότατα μέσω του εμπορίου που αναπτυσσόταν με διάφορες περιοχές της Ασίας και ορισμένα από τα θεραπευτικά οφέλη της κάνναβης ήταν γνωστά και στους Ευρωπαίους, αλλά πολλές φορές συγγεόταν με το όπιο και τις δράσεις του (Zuardi, 2006).

2.1.3. 19^{ος} και 20^{ος} αιώνας

Η χρήση της κάνναβης γνώρισε ιδιαίτερη άνθιση κατά τα μέσα του 19^{ου} αιώνα, μέσα από τον Willian B. O'Shaughnessy, ο οποίος ήταν ιρλανδός γιατρός που υπηρέτησε στην Ινδία με τους Βρετανούς για αρκετά χρόνια. Στην Ινδία πραγματοποιήθηκε και η πρώτη του επαφή με την ουσία, όπου του κέντρισε το ενδιαφέρον και αργότερα μελέτησε τη χρήση της σε ζώα, καθώς και σε διάφορους ασθενείς του, οι οποίοι υπέφεραν από διαφορετικές ασθένειες (Fankhauser, 2002). Μάλιστα το 1839 ο Willian B. O'Shaughnessy δημοσίευσε τη δουλειά του πάνω στην κάνναβη σε ένα βιβλίο με τον τίτλο «*On the preparations of the Indian hemp, or gunjah*», στο οποίο περιέγραφε αναλυτικά τις ψυχοδραστικές ιδιότητες της κάνναβης, αλλά και τα θεραπευτικά της οφέλη σε ποικίλες ασθένειες (Fankhauser, 2002).

Μία άλλη σημαντική προσωπικότητα που έπαιξε καθοριστικό ρόλο στη διάδοση της κάνναβης κατά τον 19^ο αιώνα ήταν ο Γάλλος ψυχίατρος Jacques-Joseph Moreau, ο οποίος στα ταξίδια του σε χώρες της Ασίας, ήρθε σε επαφή με την κάνναβη. Ύστερα ο Jacques-Joseph Moreau, άρχισε να πειραματίζεται χορηγώντας αρχικά στον εαυτό του διάφορες δόσεις κάνναβης και ύστερα στους μαθητές του, δημοσιεύοντας το 1845 το βιβλίο του με τίτλο «*Du Hachisch et de l'Alienation Mentale: Etudes Psychologiques*», στο οποίο περιγράφει αναλυτικά τις οξείες επιδράσεις της χρήσης κάνναβης στον άνθρωπο (Fankhauser, 2002).

Οι δύο παραπάνω προσωπικότητες, έπαιξαν πολύ σημαντικό ρόλο στη διάδοση της κάνναβης σταδιακά στην Ευρώπη και έπειτα στην Αμερική, καθώς με το έργο τους τόνιζαν τα θεραπευτικά οφέλη της κάνναβης. Κατά τα τέλη του 19^{ου} αιώνα και στις αρχές του 20^{ου} αρκετά επιστημονικά άρθρα δημοσιεύτηκαν στην Ευρώπη και στις Η.Π.Α σχετικά με τα θεραπευτικά οφέλη της κάνναβης

σε διάφορες ασθένειες και την ίδια περίοδο αρκετά εργαστήρια τόσο στην Ευρώπη, όσο και στις Η.Π.Α προχώρησαν στην κατασκευή φαρμακευτικών σκευασμάτων που περιείχαν κάνναβη (Fankhauser, 2002).

Ωστόσο τις πρώτες δεκαετίες του 20^{ου} αιώνα η χρήση της κάνναβης στην ιατρική πρακτική μειώθηκε σημαντικά, καθώς αντικαταστάθηκε από άλλα πιο αποτελεσματικά φάρμακα, τα οποία στερούνταν επίσης των εθιστικών ιδιοτήτων της κάνναβης. Μάλιστα το 1936 στις Η.Π.Α ψηφίστηκε νόμος, ο οποίος απαγόρευε τη χρήση της κάνναβης για θεραπευτικούς σκοπούς, καθώς και τη διεξαγωγή πειραμάτων με αυτή και οι παραβάτες θα κατέβαλαν χρηματικό πρόστιμο ενώ απειλούνταν επίσης και με ποινή φυλάκισης (Fankhauser, 2002). Το δεύτερο μισό του 20^{ου} αιώνα ξεκίνησε η συστηματική χρήση της κάνναβης για τις ευφορικές της ιδιότητες στη Δύση, τόσο στην Ευρώπη, όσο και στην Αμερική. Στην Αμερική μάλιστα η χρήση της ήταν ιδιαίτερα διαδεδομένη ανάμεσα στους Μαύρους της νοτιοανατολικής Βραζιλίας και από εκεί πέρασε και στην βόρεια Αμερική, όπου ανάμεσα στους πλούσιους ήταν γνωστή ως «το όπιο των φτωχών» (Fankhauser, 2002). Μέχρι τη δεκαετία του 1950 η χρήση της κάνναβης ήταν περιορισμένη ανάμεσα στους μαύρους και στους ισπανόφωνους μετανάστες στην Αμερική (Fankhauser, 2002).

Τη δεκαετία του 1960, η χρήση της κάνναβης διαδόθηκε ανάμεσα στους νέους της Δύσης, ενώ το 1964 οι Gaoni and Mechoulam, αναγνώρισαν τη χημική δομή της Δ9-THC του βασικού ψυχοδραστικού συστατικού της κάνναβης (Fankhauser, 2002). Αυτή η άνοδος της χρήσης της κάνναβης στη νεολαία, καθώς και η αναγνώριση της χημικής δομής του βασικού ψυχοδραστικού συστατικού της, κέντρισαν το ενδιαφέρον των επιστημόνων και από το 1965 έως το 1970 αυξήθηκαν κατακόρυφα οι επιστημονικές έρευνες που αφορούσαν την κάνναβη. Εν συνεχεία ακολούθησε μια περίοδος μέχρι την δεκαετία του 1990, κατά την οποία το ενδιαφέρον μετατοπίστηκε από την κάνναβη, αλλά κατά το 1990, η κάνναβη επανήλθε και πάλι στο προσκήνιο του επιστημονικού ενδιαφέροντος, όπου περιγράφηκαν επακριβώς οι δράσεις της κάνναβης στο κεντρικό νευρικό σύστημα και ανακαλύφθηκε επίσης το ανανταμίδιο, ένα ενδογενές καναβινοειδές (Zuardi, 2006).

Εφόσον επανήλθε το επιστημονικό ενδιαφέρον για τη μελέτη της κάνναβης, άρχισαν να μελετώνται και οι θεραπευτικές της επιδράσεις, αυτή τη φορά με καλύτερους όρους και μεθόδους/τεχνικές, καθώς τα δραστικά συστατικά της, όπως η Δ⁹-THC, είχαν απομονωθεί και μελετηθεί. Έτσι μέσα από έρευνες φάνηκαν αρκετά θεραπευτικά οφέλη της Δ⁹-THC, όπως η αντιεμετική, η αναλγητική της δράση, ή χρήση της ως διεγερτικό της όρεξης και επιπλέον η χρήση της για την ανακούφιση των συμπτωμάτων της πολλαπλής σκλήρυνσης (Zuardi, 2006). Τέλος σύμφωνα με τον Zuardi (2006), το 2005 ένα φαρμακευτικό εργαστήριο στον Καναδά κατασκεύασε ένα φάρμακο το οποίο περιέχει Δ⁹-THC και καναβιδιόλη για την ανακούφιση του νευροπαθητικού πόνου σε ασθενείς με πολλαπλή σκλήρυνση και δόθηκε έγκριση για την κυκλοφορία αυτού του φαρμακευτικού σκευάσματος στην Αγγλία και σε άλλες χώρες της Ευρώπης.

2.2. Ιστορική αναδρομή της εμφάνισης και της χρήσης της αμφεταμίνης

Η αμφεταμίνη σε αντίθεση με την κοκαΐνη, είναι συνθετική ουσία, η οποία συντετέθει το 1887 από τον Edeleano. Το 1927 ο Alles ανακάλυψε για πρώτη φορά ότι η αμφεταμίνη είχε παρόμοια δράση με μια ουσία που χρησιμοποιούταν ευρέως για την αντιμετώπιση του άσθματος και έκανε προσπάθειες να χρησιμοποιηθεί η αμφεταμίνη ως αντιασθματική αγωγή, μετονομάζοντας την αμφεταμίνη σε βενζεδρίνη (Μαρσέλος, 2004). Κατά την εφαρμογή της αμφεταμίνης στην κλινική πράξη για την αντιμετώπιση του άσθματος, παρατηρήθηκαν αμέσως οι διεγερτικές επιδράσεις που είχε στο κεντρικό νευρικό σύστημα, με σημαντικότερες την αυξημένη εγρήγορση και την αυπνία που προκαλούσε. Έτσι παρατηρώντας αυτές τις επιδράσεις της αμφεταμίνης οι Prinzmetal και Peoples χρησιμοποίησαν την αμφεταμίνη για την αντιμετώπιση της ναρκοληψίας, δεδομένης της αυξημένης εγρήγορσης και αυπνίας που προκαλούσε (Μαρσέλος, 2004).

Την ίδια περίπου περίοδο δείχθηκε μέσα από έρευνες ότι η αμφεταμίνη είχε ανορεξιογόνο δράση και χρησιμοποιήθηκε στην κλινική πρακτική για την απώλεια βάρους και την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, χωρίς όμως ιδιαίτερη επιτυχία, ενώ αποτυχία γνώρισε και η εισαγωγή των αμφεταμινών στην κλινική πράξη για την αντιμετώπιση της μείζονος καταθλιπτικής διαταραχής (Μαρσέλος, 2004).

Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1930, δεδομένης της ποταπαγόρευσης στις Η.Π.Α, αλλά και της χαμηλής τιμής της αμφεταμίνης, η χρήση-κατάχρηση της αμφεταμίνης, γνώρισε ιδιαίτερη άνθιση τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Παράλληλα η αμφεταμίνη και η μεθαμφεταμίνη χρησιμοποιήθηκαν ευρέως κατά τη διάρκεια του Β΄ Παγκοσμίου Πολέμου από τα βρετανικά και τα αμερικανικά στρετεύματα για την αντιμετώπιση της κούρασης και την περαιτέρω ενίσχυση της αντοχής τους στο πεδίο της μάχης (Μαρσέλος, 2004). Την ίδια περίπου χρονική περίοδο η αμφεταμίνη χρησιμοποιούταν σε μεγάλο βαθμό από φοιτητές και αθλητές, με σκοπό τον περιορισμό της κόπωσης τους και την ενίσχυση των δυνατοτήτων τους, οι μεν για να αυξήσουν τις επιδόσεις τους στη μελέτη και οι δε για να αυξήσουν τις αθλητικές τους επιδόσεις αντίστοιχα (Μαρσέλος, 2004).

Αργά ή γρήγορα δεν άργησαν να παρατηρηθούν οι τοξικές επιδράσεις της αμφεταμίνης, ενώ τώρα πλέον ξεκίνησε και η ενδοφλέβια χορήγηση αμφεταμίνης, καθώς μέχρι τότε ήταν γνωστή μόνο η από του στόματος χορήγησή της. Ειδικότερα στα τέλη της δεκαετίας του 1960 και στις αρχές της δεκαετίας του 1970, η χρήση της αμφεταμίνης έχει πάρει επιδημικές διαστάσεις στις Η.Π.Α, καθώς και σε ορισμένες χώρες της Ευρώπης, όπως η Αγγλία, αλλά και της Ασίας, όπως η Ιαπωνία (Μαρσέλος, 2004).

Στη σύγχρονη κλινική πρακτική η αμφεταμίνη δε χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό. Χρησιμοποιείται κυρίως για την αντιμετώπιση της ναρκοληψίας και σε ορισμένες περιπτώσεις της επιληψίας.

2.3. Νευροψυχοφαρμακολογία της κάνναβης

Η Δ⁹-τετραυδροκανναβινόλη (Δ⁹-THC ή THC), είναι το βασικό δραστικό συστατικό του φυτού Cannabis Sativa, ενώ υπάρχουν και άλλα κανναβινοειδή συστατικά, όπως η κανναβινόλη, που ανιχνεύονται στο φυτό. Όλα τα μέρη τόσο του αρσενικού, όσο και του θηλυκού φυτού της Cannabis Sativa είναι πλούσια σε δραστικά συστατικά, τη μεγαλύτερη όμως περιεκτικότητα σε δραστικά συστατικά την έχουν τα άνθη του φυτού (Abood & Martin, 1992). Παρακάτω θα αναφερθούμε στους ακριβείς νευρωνικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιεί η Δ⁹-THC προκειμένου να οδηγήσει το άτομο στον εθισμό.

Οι περισσότερες εθιστικές ουσίες δρούν στα ντοπαμινεργικά συστήματα ανταμοιβής και κυρίως στο μεσοφλοιικό και στο μεσομεταιχμιακό σύστημα. Ειδικότερα οι εθιστικές ουσίες ενεργοποιούν τους ντοπαμινεργικούς νευρώνες στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο, όπως φαίνεται από την αυξημένη απελευθέρωση ντοπαμίνης στις περιοχές των απολήξεων, όπως είναι ο επικλινή πυρήνας και ο προμετωπιαίος φλοιός, αλλά και από την αυξημένη πυροδότηση των ντοπαμινεργικών νευρώνων του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου (French, Dillon & Wu, 1997). Παρομοίως, σύμφωνα με τους French, Dillon και Wu (1997), η Δ⁹-THC αυξάνει την απελευθέρωση της ντοπαμίνης από τον επικλινή πυρήνα και τον προμετωπιαίο φλοιό, καθώς και το ρυθμό πυροδότησης των ντοπαμινεργικών νευρώνων στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο. Ωστόσο οι παραπάνω επιδράσεις δεν προκαλούνται από άμεση ενεργοποίηση των ντοπαμινεργικών νευρώνων από την Δ⁹-THC καθώς αυτοί δεν περιέχουν τους CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών, στους οποίους δρα η Δ⁹-THC. Αντιθέτως στη ρύθμιση των επιδράσεων της Δ⁹-THC στην απελευθέρωση της ντοπαμίνης, φαίνεται πως συμμετέχουν γλουταμινεργικές και GABAεργικές προβολές στον επικλινή πυρήνα και στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο, καθώς σύμφωνα με τους Schlicker και Kathman (2001), οι προσυναπτικοί CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών ρυθμίζουν την απελευθέρωση γλουταμινικού οξέος και GABA στις περιοχές του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου και του επικλινή πυρήνα.

Το ρόλο ρυθμιστή φαίνεται πως έχει το σύστημα των ενδογενών οπιοειδών, καθώς ρυθμίζει τις δράσεις του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών στην απελευθέρωση ντοπαμίνης από τα συστήματα ανταμοιβής του μέσου εγκεφάλου. Ειδικότερα σύμφωνα με τους Tanda, Pontieri και Di Chiara (1997), η χορήγηση της ναλοξόνης, ενός ανταγωνιστή των υποδοχέων των οπιοειδών ανέστειλε την επαγόμενη από την Δ⁹-THC αυξημένη απελευθέρωση ντοπαμίνης στο κέλυφος του επικλινή πυρήνα.

Οι Heckerman και συν. (1991), αναφέρουν την ύπαρξη CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών σε αρκετές περιοχές των βασικών γαγγλίων, συμπεριλαμβανομένου και του ραβδωτού, οι οποίες ελέγχουν την κίνηση και αποτελούνται στην πλειοψηφία τους από ντοπαμινεργικούς νευρώνες. Οι Giuffrida, Parsons, Kerr, de Fonseca, Navarro και Piomelli (1999), αναφέρουν αλληλεπιδράσεις του

συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών με τα συστήματα της ντοπαμίνης στο ραβδωτό. Ειδικότερα οι Giuffrida και συν. (1999), αναφέρουν ότι η χορήγηση κουινπιρόλης, ενός ντοπαμινεργικού αγωνιστή των D₂, D₃ και D₄ υποδοχέων αύξησε την απελευθέρωση του ανανταμίδιου ενός ενδογενούς κανναβινοειδούς, ενώ η χορήγηση του ανταγωνιστή ρακλοπρίδη για τους ίδιους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς μείωσε την απελευθέρωση ανανταμίδιου. Τα παραπάνω ευρήματα είναι πολύ σημαντικά, καθώς αναδεικνύουν την εμπλοκή του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών σε μία πολύ σημαντική συμπεριφορά, η οποία επηρεάζεται από τις περισσότερες εθιστικές ουσίες, την κινητική συμπεριφορά. Εξάλλου, όπως θα δούμε και παρακάτω η χρήση της κάνναβης δύναται να προκαλέσει στα πειραματόζωα συμπεριφορική ευαισθητοποίηση, στην οποία περιλαμβάνεται και η ευαισθητοποίηση της κινητικότητας (Cadoni, Pisanu, Solinas, Acquas & Di Chiara, 2001) και ακόμη η χρόνια χορήγηση της Δ⁹-THC είτε αγωνιστών των κανναβινοειδών προκαλεί διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση στις ψυχοκινητικές επιδράσεις των ψυχοδιεγερτικών και των οπιοειδών (Gorriti και συν., 1999).

Ένα άλλο ενδιαφέρον φαινόμενο που έχει μελετηθεί και αφορά στη χρήση της κάνναβης, είναι η ανάπτυξη αντοχής στις φαρμακολογικές δράσεις της Δ⁹-THC. Σύμφωνα με τους Abood και Martin (1992), η χρόνια χορήγηση αγωνιστών των υποδοχέων των κανναβινοειδών, οδηγεί στην ανάπτυξη αντοχής στις επιδράσεις της κάνναβης στην κινητικότητα, στην υποθερμία, στην καταληψία και στις ενισχυτικές ιδιότητες της κάνναβης όπως φαίνεται από την καταστολή διάφορων συμπεριφορών που έχουν να κάνουν με την ενίσχυση (π.χ. μείωση των αποκρίσεων του πειραματόζωου στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ή στο πρότυπο της αυτοχορήγησης φαρμάκων κ.α.). Επίσης σύμφωνα με τους Abood και Martin (1992), έχει αναφερθεί ανάπτυξη αντοχής και στις καρδιαγγειακές επιδράσεις, τις επιδράσεις στο βάρος του σώματος και στην απελευθέρωση κορτικοστερόνης από τα πειραματόζωα. Η ανάπτυξη της αντοχής στις παραπάνω δράσεις των κανναβινοειδών είναι πολύ γρήγορη, αφού στις περισσότερες περιπτώσεις ξεκινά μετά την δεύτερη χορήγηση του φαρμάκου (Abood & Martin, 1992).

Εφόσον η κάνναβη αποτελεί μια ουσία με ενισχυτική δράση, η οποία δύναται να οδηγήσει στον εθισμό, δε θα μπορούσαμε να μην κάνουμε αναφορά και στο σύνδρομο στέρησης που προκύπτει από την διακοπή της Δ⁹-THC ή διάφορων άλλων αγωνιστών των κανναβινοειδών. Το σύνδρομο στέρησης από την κάνναβη χαρακτηρίζεται τόσο από ψυχολογικά, όσο και από σωματικά συμπτώματα. Στους ανθρώπους καπνιστές κάνναβης το σύνδρομο στέρησης χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως ανησυχία, ευερεθιστότητα, άγχος, καταθλιπτικά συμπτώματα, διαταραχές στον ύπνο και στην πρόσληψη τροφής κ.α (Haney, Ward, Comer, Foltin & Fischman, 1999). Στα πειραματόζωα το σύνδρομο στέρησης χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως, αταξία, τρόμος, υποκινητικότητα, έντονο άγχος κ.α (Maldonado & de Fonseca, 2002). Σε νευρωνικό επίπεδο, το σύνδρομο στέρησης από κανναβινοειδή χαρακτηρίζεται από αυξημένα εξωκυττάρια επίπεδα της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH) στο μεσοφλοιικό σύστημα και από μείωση της

ντοπαμινεργικής δραστηριότητας στο μεσοφλοιικό σύστημα (de Fonseca, Carrera, Navarro, Koob & Weiss, 1997). Με τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν και οι Diana, Melis, Muntoni και Gessa (1998), οι οποίοι αναφέρουν μείωση του ρυθμού πυροδότησης των ντοπαμινεργικών νευρώνων του κοιλιακού καλυπτρικού πεδίου κατά τη διάρκεια συνδρόμου στέρησης από κανναβινοειδή.

Ανακεφαλαιώνοντας γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι η κάνναβη δρα στα ντοπαμινεργικά συστήματα ανταμοιβής του μέσου εγκεφάλου, όπως και οι περισσότερες εθιστικές ουσίες, αλλά η δράση της αυτή στα ντοπαμινεργικά κυκλώματα δεν είναι άμεση. Η χρόνια χρήση της κάνναβης δύναται να προκαλέσει ευαισθητοποίηση, αλλά και αντοχή στις επιδράσεις της, ενώ η διακοπή της χρήσης της συνοδεύεται από την εκδήλωση στερητικού συνδρόμου.

2.4. Νευροψυχοφαρμακολογία της αμφεταμίνης

Η αμφεταμίνη ασκεί τις δράσεις της στο κεντρικό νευρικό σύστημα μέσω της απελευθέρωσης ντοπαμίνης και νορεπινεφρίνης, ενώ τις δράσεις της στο περιφερικό νευρικό σύστημα, μέσω της απελευθέρωσης νορεπινεφρίνης (Solanto, 1998). Πιο συγκεκριμένα η αμφεταμίνη ασκεί τις δράσεις της στο κεντρικό νευρικό σύστημα δρώντας σε περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, δηλαδή σε ντοπαμινεργικά συστήματα του μέσου εγκεφάλου και κυρίως στο μεσομεταιχμιακό και στο μεσοφλοιικό σύστημα. Το μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα ξεκινά από το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο του μέσου εγκεφάλου και καταλήγει σε περιοχές του πρόσθιου εγκεφάλου, όπως είναι το ραβδωτό σώμα και ο επικλινής πυρήνας, ενώ το μεσοφλοιικό σύστημα ξεκινά από το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και καταλήγει στον προμετωπιαίο φλοιό (Παναγής, 2002).

Αναλυτικότερα, στο κεντρικό νευρικό σύστημα η αμφεταμίνη αυξάνει την απελευθέρωση των μονοαμινών και ιδιαίτερα της ντοπαμίνης με ποικίλους μηχανισμούς. Ο ένας από αυτούς έχει να κάνει με το γεγονός ότι η αμφεταμίνη αναστέλει τον αναστολέα επαναπρόσληψης των μονοαμινών από το προσυναπτικό κύτταρο και ως αποτέλεσμα αυτής της δράσης αυξάνεται η διαθεσιμότητά τους στη σύναψη. Ένας άλλος μηχανισμός σχετίζεται με την αντιστροφή της λειτουργίας του μεταφορέα της ντοπαμίνης, που επίσης οδηγεί στην αύξηση των εξωκυττάρια επιπέδων ντοπαμίνης σε περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως είναι ο επικλινής πυρήνας (Sulzer, 2011).

Έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί σε ζώα, έχουν δείξει ότι η αμφεταμίνη αυξάνει τα εξωκυττάρια επίπεδα ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα (Barbo, 1998), ενώ παράλληλα έρευνες έχουν δείξει ότι η αμφεταμίνη αυτοχορηγείται από τα πειραματόζωα, είτε ενδοφλεβίως, είτε ενδοεγκεφαλικά σε περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως ο επικλινής πυρήνας και αυτή η δράση τους αναστέλεται είτε από επιλεκτική καταστροφή των ντοπαμινεργικών απολήξεων, είτε από φαρμακολογικό αποκλεισμό των ντοπαμινεργικών υποδοχέων (Bressan & Crippa, 2005).

Χαρακτηριστικές είναι και οι επιδράσεις της αμφεταμίνης στην κινητική δραστηριότητα των χρηστών. Σύμφωνα με τον Solanto (1998), η λήψη της αμφεταμίνης, οδηγεί σε αυξημένη ψυχοκινητική δραστηριότητα, η οποία σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ντοπαμινεργικών υποδοχέων στο μεσομεταιχμιακό σύστημα, ενώ η στερεοτυπία (επανάληψη άσκοπων κινήσεων) που παρατηρείται μετά τη λήψη υψηλών δόσεων αμφεταμίνης, σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ντοπαμινεργικών νευρώνων στην περιοχή των βασικών γαγγλίων, μια περιοχή που είναι υπεύθυνη για τον έλεγχο της κινητικής δραστηριότητας.

Πέρα όμως της δράσης της στο κεντρικό νευρικό σύστημα, η αμφεταμίνη δρά και στο περιφερικό νευρικό σύστημα και ιδιαίτερα στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα. Μάλιστα γι' αυτό το λόγο η αμφεταμίνη χαρακτηρίζεται και ως ουσία με συμπαθομιμητική δράση, καθώς μιμείται τις δράσεις του συμπαθητικού νευρικού συστήματος (Ciccarone, 2011). Σε αυτές τις δράσεις συμπεριλαμβάνονται η αύξηση της πίεσης του αίματος, η αύξηση του καρδιακού ρυθμού και του ρυθμού της αναπνοής, η αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος και της εφίδρωσης, η εκδήλωση τρόμου, καθώς και η αυξημένη ενεργοποίηση των αντανεκλαστικών (Ciccarone, 2011).

Δεδομένης της αγωνιστικής δράσης της ντοπαμίνης στα ντοπαμινεργικά κυκλώματα ανταμοιβής, αλλά και των πειραματικών δεδομένων για την αυτοχορήγησή της από τα πειραματόζωα, γίνεται κατανοητό ότι η αμφεταμίνη είναι μια ουσία με ευφορική δράση, η συνεχής λήψη της οποίας δύναται να οδηγήσει το άτομο στον εθισμό. Αυτές λοιπόν οι ευφορικές δράσεις που προκαλούνται από τη λήψη αμφεταμίνης είναι γνωστές με τον όρο θετική ενίσχυση, κατά την οποία ο χρήστης, είτε πειραματόζωο, είτε άνθρωπος, επαναλαμβάνει τη χρήση της αμφεταμίνης, προκειμένου να βιώσει τις ευφορικές της δράσεις και τελικά οδηγείται στον εθισμό σε αυτή (Bernstein, 1995). Ωστόσο στην εγκαθίδρυση του εθισμού στην αμφεταμίνη συμβάλει και ένα άλλο φαινόμενο που καλείται αρνητική ενίσχυση και κατά το οποίο ο χρήστης προκειμένου να αποφύγει τις αρνητικές επιπτώσεις από τη διακοπή της λήψης της αμφεταμίνης (τόσο σε ψυχολογικό επίπεδο, όπως είναι η κατάθλιψη, όσο και σε σωματικό επίπεδο όπως η αύξηση της όρεξης, του βάρους και η αυξημένη ανάγκη για ύπνο), συνεχίζει τη λήψη της αμφεταμίνης και τελικά οδηγείται στον εθισμό από αυτή (Bernstein, 1995).

Παράλληλα, η επαναλαμβανόμενη λήψη της αμφεταμίνης μπορεί να προκαλέσει ευαισθητοποίηση, ένα φαινόμενο κατά το οποίο ο χρήστης είναι πιο ευαίσθητος στις επιδράσεις της αμφεταμίνης μετά το πέρας του χρόνου, ακόμη και όταν χορηγεί παρόμοιες ή και μικρότερες δόσεις. Παρατηρείται κυρίως μετά από περιστασιακή χρήση του εκάστοτε ψυχοδιεγερτικού (Stewart & Badiani, 1993). Στις συχνότερες όμως των περιπτώσεων ο χρήστης παρουσιάζει ανοχή στις εθιστικές και στις άλλες ιδιότητες της αμφεταμίνης, ένα φαινόμενο αντίστροφο από αυτό της ευαισθητοποίησης κατά το οποίο ο χρήστης παρουσιάζει μειωμένη ευαισθησία-απαντητικότητα στις επιδράσεις του φαρμάκου με το πέρασμα του χρόνου (Stewart & Badiani, 1993). Τόσο το φαινόμενο της ευαισθητοποίησης όπου ο χρήστης βιώνει όλο και εντονότερα τις επιδράσεις της αμφεταμίνης, όσο και

το φαινόμενο της ανοτοχής όπου ο χρήστης επιδιώκοντας τα αποτελέσματα που βίωσε με την αρχική λήψη της αμφεταμίνης, αναγκάζεται να αυξήσει σταδιακά τη δόση, συμβάλουν αδιαμφισβήτητα και τα δύο στον εθισμό στην αμφεταμίνη.

Ένα άλλο ενδιαφέρον φαινόμενο που φαίνεται ότι συμβάλλει στην εγκαθίδρυση του εθισμού στην αμφεταμίνη, είναι οι νευροπλαστικές αλλαγές που πραγματοποιούνται κατά τη λήψη της αμφεταμίνης. Οι νευροπροσαρμογές αυτές όπως ονομάζονται προκαλούνται τόσο από την οξεία όσο και από τη χρόνια χορήγηση της αμφεταμίνης, και περιλαμβάνουν αλλαγές σε επίπεδο υποδοχέων, δομικές και άλλες αλλαγές, οι οποίες αποτελούν μια προσπάθεια του εγκεφάλου να διατηρήσει την ομοιόστασή του, η οποία διαταράσσεται από τη λήψη της αμφεταμίνης (Taylor, Lewis και Olive, 2013).

Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει και το φαινόμενο της υποτροπής, η οποία συνίσταται στην επανάληψη της χρήσης της αμφεταμίνης, μετά από ένα μεγάλο χρονικό διάστημα κατά το οποίο ο χρήστης ήταν απών από τη λήψη της ουσίας (Shalev, Grimm & Shaham, 2002). Έχει βρεθεί ότι η υποτροπή στα ψυχοδιεγερτικά, συμπεριλαμβανομένης και της αμφεταμίνης, μπορεί να προκληθεί από στρεσογόνους παράγοντες, από περιβαλλοντικά ερεθίσματα που σχετίζονται με τη λήψη της ουσίας και από μια μικρή δόση- έναυσμα του φαρμάκου (στην προκειμένη περίπτωση της αμφεταμίνης (Shalev, Grimm & Shaham, 2002).

2.5. Επιδράσεις της Δ^9 -THC στην κινητικότητα

Πειραματικά δεδομένα εμπλέκουν τη δράση της Δ^9 -THC σε κυκλώματα και περιοχές του εγκεφάλου που ελέγχουν την κίνηση, υποστηρίζοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η Δ^9 -THC είναι σε θέση να επηρεάσει την κίνηση.

Τα βασικά γάγγλια είναι ένα σύνολο πυρήνων που βρίσκονται στο εσωτερικό του εγκεφάλου και παίζουν καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο της στάσης του σώματος και στην ρύθμιση των εκούσιων κινήσεων (Παναγής, 2010). Αποτελούνται από επιμέρους δομές όπως είναι το ραβδωτό (κέλυφος και κερκοφόρος πυρήνας), ο φακοειδής πυρήνας (κέλυφος και ωχρά σφαίρα), ο υποθαλάμιος πυρήνας και η μέλαινα ουσία, περιοχές που εμπλέκονται στη ρύθμιση των κινήσεων (Παναγής, 2010). Αυτές οι επιμέρους δομές των βασικών γαγγλίων δέχονται προβολές από κινητικές περιοχές του φλοιού και του θαλάμου και αντίστοιχα στέλνουν προβολές σε άλλες εγκεφαλικές περιοχές που είναι υπεύθυνες για την κίνηση, όπως είναι ο θάλαμος, το εγκεφαλικό στέλεχος κ.α (Del Arco, Marti, Gorriti & Navarro, 1998).

Οι Heckerman, Lynn, Tohnson, Melvin, de Costa και Rice (1991), σε μια in vitro μέλετη που πραγματοποίησαν με την τεχνική της αυτοραδιογραφίας, αναφέρουν μεγάλη πυκνότητα των CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών σε αρκετές από τις περιοχές των βασικών γαγγλίων. Τα

παραπάνω ευρήματα επαληθεύουν με την ερευνά τους σχετικά με την κατανομή των υποδοχέων των κανναβινοειδών στον εγκέφαλο και οι Glass, Faull και Dragunow (1997).

Δεδομένου του σημαντικού ρόλου που παίζουν τα βασικά γάγγλια στον έλεγχο της κίνησης, αλλά και της ύπαρξης στα βασικά γάγγλια των υποδοχέων των κανναβινοειδών, συμπεραίνει κανείς ότι η Δ^9 -THC επηρεάζει με κάποιο τρόπο την κίνηση. Σύμφωνα με τους Del Arco, Marti, Gorriti και Navarro (1998), η οξεία χορήγηση μικρών δόσεων της Δ^9 -THC ή διάφορων αγωνιστών των υποδοχέων των κανναβινοειδών, όπως είναι ο HU-210, ο WIN 55,121-2, ο AM356 κ.α, έχει σαν αποτέλεσμα μια αύξηση της κινητικότητας και της εξερεύνησης που διαρκεί για μικρό χρονικό διάστημα στα πειραματόζωα, ενώ από την άλλη πλευρά η χορήγηση σε μεγαλύτερες δόσεις των παραπάνω φαρμάκων, έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της κινητικής δραστηριότητας των πειραματόζωων και σε ορισμένες περιπτώσεις η υποκινητικότητα που προκαλείται είναι σε τέτοιο βαθμό, ώστε παρατηρούνται φαινόμενα όπως η ακινησία, η καταληψία, η καταστολή της αυτοπεριποίησης, μείωση της εξερεύνησης κ.α. Παρόμοια ευρήματα σχετικά με τις διφασικές επιδράσεις της Δ^9 -THC και των αγωνιστών των υποδοχέων των κανναβινοειδών στην κινητική συμπεριφορά, αναφέρονται και από τους Polissidis, Chouliara, Galanopoulos, Rentesi, Dosi, Hyphantis και συν. (2010), οι οποίοι στην έρευνά τους αναφέρουν ότι η χορήγηση μικρών δόσεων της Δ^9 -THC και του αγωνιστή των υποδοχέων των κανναβινοειδών WIN 55,212-2, αύξησε την κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων, ενώ η χορήγηση τους σε μεγάλες δόσεις προκάλεσε καταστολή της κινητικής δραστηριότητας των πειραματόζωων. Τέλος τα παραπάνω ευρήματα για τη διφασική δράση της Δ^9 -THC στην κινητική δραστηριότητα, επιβεβαιώνονται και από την έρευνα των Katsidoní και συν. (2013), όπου αναφέρεται ότι η δόση 0,1mg/kg της Δ^9 -THC, προκαλεί υπερκινητικότητα στα πειραματόζωα, ενώ αντίθετα η δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC, προκαλεί υποκινητικότητα.

Από τα παραπάνω γίνεται κατανοητό ότι η Δ^9 -THC επιδρά στην κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων, μέσω της δράσης της στις διάφορες περιοχές των βασικών γαγγλίων που ελέγχουν τη κίνηση. Η επιδρασή της στην κινητικότητα είναι δόσοεξαρτώμενη, με τις μικρές δόσεις να προκαλούν υπερκινητικότητα, ενώ τις μεγαλύτερες να προκαλούν υποκινητικότητα.

2.6. Επιδράσεις της αμφεταμίνης στην κινητικότητα

Η ντοπαμίνη πέρα από τις άλλες λειτουργίες φαίνεται πως είναι υπεύθυνη και για τον έλεγχο της κίνησης. Ιδιαίτερα η μελαινοραβδωτή ντοπαμινεργική οδός, η οποία ξεκινά από τη μέλαινα ουσία και καταλήγει στο ραβδωτό (κερκοφόρος πυρήνας και κέλυφος του φακοειδούς πυρήνα) και στην ωχρά σφαίρα παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της εκούσιας κίνησης και εκφύλισή της έχει συνδεθεί με τη νόσο Parkinson (Παναγής, 2010). Ο σημαντικός ρόλος της ντοπαμίνης στον έλεγχο της κίνησης φαίνεται και από το γεγονός ότι η χορήγηση ανταγωνιστών της ντοπαμίνης, όπως για

παράδειγμα αρκετά αντιψυχωσικά, προκαλούν στα πειραματόζωα και στους ανθρώπους υποκινητικότητα και σε μεγαλύτερες δόσεις καταληψία (δηλαδή ακινησία), ενώ η χορήγηση αγωνιστών της ντοπαμίνης (όπως για παράδειγμα η αμφεταμίνη), αυξάνουν την κινητική δραστηριότητα και σε ακόμα μεγαλύτερες δόσεις προκαλούν στα πειραματόζωα στερεοτυπία (επαναλαμβανόμενο μοτίβο άσκοπων κινητικών συμπεριφορών) (Beninger, 1983).

Η αμφεταμίνη όπως είδαμε ενισχύει την ντοπαμινεργική δραστηριότητα και η λήψη της προκαλεί τόσο στον άνθρωπο όσο και στα πειραματόζωα ένα συμπεριφορικό σύνδρομο, το οποίο χαρακτηρίζεται από αυξημένη κινητικότητα και όταν ληφθεί σε πολύ μεγάλες δόσεις προκαλεί στερεοτυπία και αυτή η δράση αντιστρέφεται είτε με φαρμακολογικό αποκλεισμό των ντοπαμινεργικών υποδοχέων είτε με αποκλεισμό της σύνθεσης της ντοπαμίνης, ή με καταστροφή των ντοπαμινεργικών νευρώνων (Sharp, Zetterstrom, Ljungberg & Ungerstedt, 1987). Μάλιστα, φαίνεται πως η επαγόμενη από την αμφεταμίνη στερεοτυπία, οφείλεται στην αυξημένη απελευθέρωση ντοπαμίνης από το ραβδωτό, ενώ η επαγόμενη από την αμφεταμίνη υπερκινητικότητα οφείλεται στην απελευθέρωση ντοπαμίνης από τον επικλινή πυρήνα (Sharp και συν., 1987). Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνονται και από το γεγονός ότι επιλεκτική καταστροφή των ντοπαμινεργικών απολήξεων στο ραβδωτό, μειώνει την επαγόμενη από την αμφεταμίνη στερεοτυπία, αλλά όχι την υπερκινητικότητα, ενώ η επιλεκτική καταστροφή των ντοπαμινεργικών απολήξεων στον επικλινή πυρήνα, μειώνει την επαγόμενη από την αμφεταμίνη υπερκινητικότητα, αλλά όχι την στερεοτυπία (Sharp και συν., 1987). Τα παραπάνω ευρήματα είναι σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα που δείχνουν ότι τοπική έγχυση αμφεταμίνης, ντοπαμίνης ή αγωνιστών της ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα προκαλούν υπερκινητικότητα, ενώ παρόμοιες εγχύσεις στο ραβδωτό προκαλούν στερεοτυπία, ενώ παρομοίως ενδοεγκεφαλική έγχυση ανταγωνιστών της ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα και στο ραβδωτό, αναστέλλουν την υπερκινητικότητα και τη στερεοτυπία αντίστοιχα, που προκαλούνται από την περιφερική χορήγηση αμφεταμίνης (Sharp και συν., 1987). Από την άλλη πλευρά οι Costall και Naylor (όπως αναφέρεται στον Beninger, 1983), έδειξαν στην έρευνά τους ότι είναι δυνατό να προκληθεί υπερκινητικότητα μετά από τοπική έγχυση ντοπαμίνης στο ραβδωτό και καταληψία μετά από τοπική έγχυση ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα.

Ερευνητικά δεδομένα τώρα, έχουν δείξει ότι αυτή η διφασική ικανότητα της αμφεταμίνης να προκαλεί είτε υπερκινητικότητα είτε καταληψία, είναι δόσοεξαρτώμενη, με την στερεοτυπία να προκαλείται από υψηλές δόσεις αμφεταμίνης (5-10mg/kg) και την υπερκινητικότητα να προκαλείται από τη λήψη χαμηλότερων δόσεων (0,2-2mg/kg) (Sharp και συν., 1987). Παρόμοιες δόσοεξαρτώμενες επιδράσεις της αμφεταμίνης στην κινητική συμπεριφορά, αναφέρουν και οι Lyon και Robbins (1975), σύμφωνα με τους οποίους σε δόσεις 0.5-2mg/kg η κύρια δράση της αμφεταμίνης, είναι η πρόκληση υπερκινητικότητας, ενώ οι Lyon και Robbins (1975) φαίνεται πως μεγάλωνουν λίγο το εύρος των δόσεων που μπορούν να προκαλέσουν στερεοτυπία, αφού αναφέρουν ότι σε δόσεις 2-10mg/kg η αμφεταμίνη προκαλεί μια σύντομη περίοδο υπερκινητικότητας στα

πειραματόζωα, η οποία ακολουθείται από μια περίοδο καταληψίας, η οποία χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, όπως το ροκάνισμα, το ρουθούνισμα, το γλύψιμο και οι ρυθμικές κινήσεις του κεφαλιού. Στο σημείο αυτό ενδιαφέρον παρουσιάζει και το εύρημα των Haracz, Tschanz, Wang, White και Rebec (1993), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η δόση 1mg/kg της αμφεταμίνης, όταν χορήγηθηκε ενδοπεριτοναϊκά, αύξησε τον ρυθμό πυροδότησης των κινητικών νευρώνων στο ραβδωτό, ενώ μείωσε το ρυθμό πυροδότησης των μη κινητικών νευρώνων σε ελεύθερα κινούμενους επίμυες.

Η επιλεκτική ενεργοποίηση είτε του ραβδωτού είτε του επικλινούς πυρήνα ανάλογα με τη δόση της αμφεταμίνης και η αντίστοιχη πρόκληση στερεοτυπίας και υπερκινητικότητας δεν είναι οι μόνες που οφείλονται στην αμφεταμίνη. Σύμφωνα με τους Ferger, Kropf και Kuchinsky (1994), οι επιδράσεις της χορήγησης χαμηλών δόσεων αμφεταμίνης (0.4mg/kg) στην αύξηση της κινητικής δραστηριότητας διαμεσολαβούνται από τη λειτουργία των D1 ντοπαμινεργικών υποδοχέων, ενώ οι επιδράσεις της χορήγησης υψηλών δόσεων (4mg/kg) αμφεταμίνης στην πρόκληση υπερκινητικότητας και στερεοτυπίας διαμεσολαβούνται από τη λειτουργία και των D1 και των D2 ντοπαμινεργικών υποδοχέων.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η δόση της αμφεταμίνης 1-5mg/kg, ικανή να προκαλέσει υπερκινητικότητα και στερεοτυπία, δεν επηρεάζει μόνο την ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση αλλά και τη σεροτονινεργική, καθώς έχειδειχθεί ότι αυτή η δόση αύξησε τα επίπεδα της σεροτονίνης στο ραβδωτό και στον μετωπιαίο φλοιό, δύο περιοχές που λαμβάνουν σεροτονινεργικές προβολές από τον ραχιαίο πυρήνα της ραφής, εμπλέκοντας με αυτόν τον τρόπο και τη σεροτονινεργική νευροδιαβίβαση στον έλεγχο της υπερκινητικότητας και της στερεοτυπίας, η οποία προκαλείται από την αμφεταμίνη (Kuczenski, Segal, Leith & Applegate, 1987).

Ένα άλλο ενδιαφέρον φαινόμενο, το οποίο έχει παρατηρηθεί και σε πειραματόζωα αλλά και σε ανθρώπους εθισμένους στην κοκαΐνη είναι η συμπεριφορική ευαισθητοποίηση ή όπως αλλιώς ονομάζεται αντίστροφη ανοχή (Robinson και Becker, 1986). Η συμπεριφορική ευαισθητοποίηση αναφέρεται σε ένα φαινόμενο, κατά το οποίο η επαναλαμβανόμενη χορήγηση αμφεταμίνης αυξάνει την απαντητικότητα του οργανισμού στις επόμενες χορηγήσεις ίδιας δόσης της αμφεταμίνης και αφορά ποικίλες συμπεριφορές επαγόμενες από την αμφεταμίνη, συμπεριλαμβανομένης και της κινητικής συμπεριφοράς (Crider, Solomon & McMahon, 1982). Αναλυτικότερα στα πειραματόζωα, στα οποία παρουσιάζεται ευαισθητοποίηση της κινητικής τους δραστηριότητας μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση αμφεταμίνης, παρατηρείται με το πέρασμα του χρόνου αύξηση της κινητικής τους δραστηριότητας, ενώ η δόση της αμφεταμίνης που χορηγείται είναι η ίδια (Crider, Solomon & McMahon, 1982). Στα πειραματόζωα η ευαισθητοποίηση έχειδειχθεί ότι παράγεται από δόσεις της αμφεταμίνης μικρότερες του 1mg/kg, οι οποίες κυμαίνονται μέχρι και τα 10mg/kg, ενώ η συχνότητα των χορηγήσεων κυμαίνεται από μία έως δύο φορές την ημέρα για μία έως δύο εβδομάδες,

ενώ ακόμη και μία χορήγηση αμφεταμίνης είναι ικανή να αυξήσει την απαντητικότητα του οργανισμού στην δεύτερη χορήγηση, η οποία πραγματοποιείται εβδομάδες μετά την πρώτη χορήγηση (Robinson και Becker, 1986).

Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι η αμφεταμίνη μπορεί να αυξήσει την κινητικότητα ενός οργανισμού, καθώς ως αγωνιστής της ντοπαμίνης δρα στα ντοπαμινεργικά κυκλώματα που είναι υπεύθυνα για τον έλεγχο της κίνησης. Τέλος σε μικρές δόσεις προκαλεί υπερκινητικότητα, ενώ σε ακόμη μεγαλύτερες, προκαλεί στερεοτυπία.

2.7. Επιδράσεις της Δ^9 -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό

Οι ψυχοτρόπες δράσεις της Δ^9 -THC οφείλονται στο γεγονός ότι η Δ^9 -THC ενεργοποιεί το μεσοφλοιικό και το μεσομεταιχμιακό ντοπαμινεργικό σύστημα (Chen, Paredes, Lowinson & Gardner, 1991) και μάλιστα έχει βρεθεί ότι η Δ^9 -THC μπορεί να αυξήσει επιλεκτικά την απελευθέρωση της ντοπαμίνης στο κέλυφος του επικλινή πυρήνα, όπως και οι άλλες εθιστικές ουσίες (Tanda, Pontinieri & Di Chiara, 1997). Οι ευφορικές ιδιότητες της Δ^9 -THC διαφαίνονται και από το γεγονός ότι κατά το σύνδρομο στέρησης από Δ^9 -THC, τα πειραματόζωα παρουσιάζουν άνοδο του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, γεγονός που αντικατοπτρίζει την ύπαρξη ανηδονίας και καταθλιπτικών συμπτωμάτων στα πειραματόζωα. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Zongen, Solinas, Ikemoto, Goldberg και Wise (2006), μικροεγχύσεις της Δ^9 -THC στο οπίσθιο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και στο οπίσθιο κέλυφος του επικλινή πυρήνα, μπορούν να προκαλέσουν εξαρτημένη προτίμηση θέσης στα πειραματόζωα.

Δεδομένων των ευφορικών ιδιοτήτων της Δ^9 -THC και της δράσης της στα ντοπαμινεργικά συστήματα ανταμοιβής, θα περιμένει κανείς ότι η δράση της στον ενδοκρανιακό ερεθισμό, είναι η μείωση του ουδού, δηλαδή η μετατόπιση της καμπύλης συχνότητας ερεθισμού/ αντιδράσεων προς τα αριστερά, όπως συμβαίνει με τις περισσότερες εθιστικές ουσίες. Ωστόσο τα ευρήματα για τις επιδράσεις της Δ^9 -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό είναι αντικρουόμενα, με ορισμένες έρευνες να δείχνουν ηδονική δράση της Δ^9 -THC και άλλες όχι. Για παράδειγμα οι Gardner, Paredes, Smith, Donner, Milling, Cohen και Morrison (1988), παρατήρησαν στην έρευνά τους ότι η Δ^9 -THC σε δόση 1,5mg/kg, μείωσε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε επίμυες, τόσο 15, όσο και 30 λεπτά μετά την ενδοφλέβια χορήγησή της. Η δράση της Δ^9 -THC φαίνεται πως εξαρτάται από το στέλεχος του πειραματοζώου που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε έρευνα, όπως έδειξαν οι Lepore, Liu, Savage, Matalon και Gardner (1996), οι οποίοι εξέτασαν στην έρευνά τους τις επιδράσεις της Δ^9 -THC σε τρία διαφορετικά στελέχη επίμυων. Αναλυτικότερα οι Lepore και συν. (1996), παρατήρησαν ότι η δόση 1mg/kg, όταν χορηγήθηκε ενδοπεριτοναϊκά, μείωσε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού σε επίμυες Lewis και οριακά σε επίμυες Spargue-Dawley, ενώ δεν είχε καμία επίδραση σε επίμυες Fisher 344. Στους επίμυες Lewis, αυτή η μείωση του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ήταν η πιο

έντονη και η πιο εμφανής από τα άλλα δύο στελέχη, καθώς οι Lewis επίμυες, αποτελούν ένα στέλεχος επίμυων που επιδεικνύουν αυξημένη ευαισθησία στις ενισχυτικές ιδιότητες πλήθους εθιστικών ουσιών (Lepore και συν., 1996).

Από την άλλη πλευρά υπάρχουν και έρευνες, οι οποίες δεν αναφέρουν ενισχυτικές επιδράσεις της Δ^9 -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Οι Vlachou, Nomikos, Stephens και Panagis (2007), μετά από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση της Δ^9 -THC σε δόσεις 0,5 mg/kg, 1 mg/kg και 2 mg/kg σε επίμυες Sprague-Dawley, δεν παρατήρησαν καμία μείωση του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ αντιθέτως παρατηρήθηκαν σημαντικές αυξήσεις στις δόσεις 1mg/kg και 2mg/kg, γεγονός που υποδηλώνει την ύπαρξη ανηδονίας-μη ενισχυτικής δράσης στα πειραματόζωα. Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκαν και τα αποτελέσματα από την έρευνα των Fokos και Panagis (2009), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση Δ^9 -THC σε δόσεις 0,5 mg/kg και 1mg/kg σε επίμυες Sprague-Dawley, δεν μείωσε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ αντιθέτως παρατηρήθηκε μικρή αύξηση του ουδού, τόσο σε ζώα που είχαν εκτεθεί σε χρόνια απροσδόκητο στρες, όσο και σε ζώα που δεν είχαν εκτεθεί.

Ενδιαφέρον στο σημείο αυτό παρουσιάζει η έρευνα των Katsidoni, Kastellakis και Panagis (2013), η οποία έρχεται να προσθέσει επιπλέον ευρήματα για τις επιδράσεις της Δ^9 -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, μελετώντας τις διαφασικές επιδράσεις της Δ^9 -THC στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Αναλυτικότερα σύμφωνα με τους Katsidoni και συν. (2013), η δόση 0.1mg/kg της Δ^9 -THC μειώνει τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, γεγονός που υποδεικνύει ενισχυτική-ηδονική δράση στα πειραματόζωα, ενώ η μεγαλύτερη δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC, αυξάνει τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, το οποίο μεταφράζεται στην εμφάνιση ανηδονίας.

Όπως και με άλλες εθιστικές ουσίες, έτσι και στην περίπτωση της κάνναβης, έχει αναφερθεί η ανάπτυξη αντοχής και ευαισθητοποίησης, καθώς και η εκδήλωση συνδρόμου στέρησης. Οι Maldonado και de Fonseca (2002), στην ανασκόπησή τους σχετικά με τις νευροβιολογικές συνιστώσες του εθισμού στην Δ^9 -THC, αναφέρονται εκτενώς στην ανάπτυξη αντοχής και ευαισθητοποίησης στις ευφορικές ιδιότητες της Δ^9 -THC τόσο στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, όσο και σε άλλα πειραματικά πρότυπα μελέτης της ενίσχυσης, αλλά και στην εκδήλωση του συνδρόμου στέρησης από την Δ^9 -THC.

2.8. Επιδράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό

Ο ενδοκρανιακός αυτοερεθισμός είναι ένα πειραματικό πρότυπο για τη μελέτη των εθιστικών ουσιών, στο οποίο τα πειραματόζωα αυτοχορηγούν ενισχυτικά ηλεκτρικά ερεθίσματα μέσω ηλεκτροδίων, τα οποία είναι εμφυτευμένα σε συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου (Carlezon & Chartoff, 2007). Τα ηλεκτρόδια εμφυτεύονται σε περιοχές του ντοπαμινεργικού κυκλώματος

ανταμοιβής, όπως είναι ο επικλινής πυρήνας, το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο κ.α. Στις περισσότερες όμως έρευνες η εμφύτευση των ηλεκτροδίων πραγματοποιείται σε μία από τις περιοχές της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας, όπως είναι ο έξω υποθάλαμος, καθώς με την εμφύτευση των ηλεκτροδίων σε αυτές τις περιοχές παράγονται σταθερά αποτελέσματα στα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και αποφεύγονται οι κινητικές παρενέργειες, οι οποίες παρατηρούνται με την εμφύτευση των ηλεκτροδίων σε περιοχές, όπως ο επικλινής πυρήνας και το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο (Carlezon & Chartoff, 2007).

Η συμπεριφορά του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, μπορεί να τροποποιηθεί με τη χορήγηση εθιστικών ουσιών (συμπεριλαμβανομένης και της αμφεταμίνης). Η χορήγηση της εκάστοτε εθιστικής ουσίας μειώνει την συχνότητα του ηλεκτρικού ρεύματος που χρειάζεται το πειραματόζωο για να ενισχυθεί, προκαλείται δηλαδή πτώση του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ή αλλιώς μετατόπιση της καμπύλης συχνότητας ερεθισμού/αντιδράσεων πειραματοζώου προς τα αριστερά, γεγονός που υποδηλώνει την ενισχυτική τους δράση. Αντίθετα, η άνοδος του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ή διαφορετικά η μετατόπιση της καμπύλης συχνότητας ερεθισμού/αντιδράσεων πειραματοζώου προς τα δεξιά, υποδηλώνει μη ενισχυτική δράση του φαρμάκου ή την ύπαρξη ανηδονίας στα πειραματόζωα (Παναγής, 2010).

Αρκετές έρευνες οι οποίες ελέγχουν την αμφεταμίνη με τη διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, συμφωνούν στο γεγονός ότι η αμφεταμίνη έχει ενισχυτική δράση, αφού μειώνει τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Για παράδειγμα οι Bauer, Banks, Blough και Negus (2013), οι οποίοι στην έρευνά τους μελέτησαν τις επιδράσεις στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ουσιών που ευοδώνουν την απελευθέρωση των μονοαμινών στις οποίες περιλαμβάνεται και η αμφεταμίνη, παρατήρησαν ότι η αμφεταμίνη σε δόσεις μεγαλύτερες ή ίσες του 0,032mg/kg (πιο συγκεκριμένα στις δόσεις 0,032 mg/kg, 0,1mg/kg, 0,32mg/kg και 1mg/kg), παρουσίασε ενισχυτική δράση, μειώνοντας τον ουδό, μετατοπίζοντας δηλαδή την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/ αντιδράσεων προς τα αριστερά, σε σχέση με την επίδραση του εκδόχου. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και από τους Esposito, Perry και Kornetsky (1980), οι οποίοι ελέγχοντας τις επιδράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, παρατήρησαν ότι η αμφεταμίνη σε δόσεις 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1mg/kg και 2mg/kg, μετατόπισε την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/αντιδράσεων προς τα αριστερά, μειώνοντας τον ουδό, γεγονός που υποδηλώνει την ενισχυτική της δράση. Παρομοίως οι Hunt και Atrens (1992), αναφέρουν ενισχυτική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, όταν αυτή χορηγήθηκε ενδοφλεβίως σε δόσεις 0,25mg/kg έως 1mg/kg.

Πιο πάνω αναφερθήκαμε στο γεγονός ότι μπορεί να αναπτυχθεί ευαισθητοποίηση ή αντοχή στις κινητικές επιδράσεις της αμφεταμίνης και κατά τον ίδιο τρόπο είναι δυνατό να αναπτυχθεί αντοχή ή ευαισθητοποίηση στις ευφορικές δράσεις που εμφανίζει η αμφεταμίνη στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Οι Kokkinidis και Zacharko (1980) στην έρευνά τους αναφέρουν την ανάπτυξη

ευαισθητοποίησης στην αμφεταμίνη σε πειραματόζωα που εξετάζονταν στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Αυτό ουσιαστικά σημαίνει ότι τα πειραματόζωα παρουσίαζαν μέρα με τη μέρα αυξημένη απαντητικότητα (πιέσεις του μοχλού), μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση της ίδιας δόσης αμφεταμίνης, ενώ παρόμοια αποτελέσματα για την ύπαρξη ευαισθητοποίησης στην αμφεταμίνη σε πειραματόζωα που εξετάζονταν με τη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, αναφέρουν και οι Predy και Kokkinidis (1984). Από την άλλη πλευρά οι Leith και Barrett (1976), αναφέρουν την ανάπτυξη αντοχής στις ευφοριογόνους δράσεις της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, γεγονός που μεταφράζεται ως μειωμένη απαντητικότητα των πειραματοζώων στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, μετά από επαναλαμβανόμενη χορήγηση των ίδιων δόσεων της αμφεταμίνης. Με τα παραπάνω ευρήματα για την ανάπτυξη αντοχής συμφωνούν και οι Leith και Barrett (1981).

Τέλος ένα άλλο ενδιαφέρον φαινόμενο που αξίζει να αναφερθεί, είναι οι επιδράσεις του συνδρόμου στέρησης από αμφεταμίνη στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Οι Paterson, Myers και Markou (2000), ελέγχοντας επίμυες που τους είχε χορηγηθεί αμφεταμίνη, παρατήρησαν ότι κατά τη διάρκεια του συνδρόμου στέρησης από αυτήν ο ουδός του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού ανέβηκε, δηλαδή η καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/αντιδράσεων, μετατοπίστηκε προς τα δεξιά, ένδειξη της εμφάνισης ανηδονίας στα πειραματόζωα εξαιτίας του συνδρόμου στέρησης που βίωναν.

Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι η αμφεταμίνη όταν χορηγείται είτε σε μικρότερες είτε σε μεγαλύτερες δόσεις, μειώνει τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, γεγονός που υποδηλώνει την ηδονική της δράση, ενώ κατά τη διάρκεια του συνδρόμου στέρησης από αμφεταμίνη, παρατηρείται η αντίστροφη επίδραση, δηλαδή άνοδος του ουδού και εμφάνιση ανηδονίας στα πειραματόζωα. Τέλος η επαναλαμβανόμενη χορήγηση αμφεταμίνης είναι δυνατό να προκαλέσει την ανάπτυξη αντοχής ή ευαισθητοποίησης στα πειραματόζωα, γεγονός που φαίνεται στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ως μειωμένη ή αυξημένη αντίστοιχα απαντητικότητα του πειραματόζωου.

2.9. Αλληλεπιδράσεις της Δ^9 -THC με την αμφεταμίνη

Το σύστημα των ενδογενών κανναβινοειδών είναι κυρίως υπεύθυνο για την εκδήλωση των φαρμακολογικών και ενισχυτικών ιδιοτήτων των κανναβινοειδών, τόσο των ενδογενών (π.χ. ανανταμίδιο), όσο και των εξωγενώς χορηγούμενων (π.χ. Δ^9 -THC) (Litchman & Martin, 2005). Ωστόσο, φαίνεται πως αυτό το σύστημα επιδρά στα κυκλώματα ανταμοιβής του εγκεφάλου με το ρόλο του ρυθμιστή και συμμετέχει στη ρύθμιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων όλων των εθιστικών ουσιών συμπεριλαμβανομένης και της αμφεταμίνης. Εξάλλου η αλληλεπίδραση του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών με το σύστημα ανταμοιβής το εγκεφάλου, φαίνεται και από το γεγονός ότι οι CB1 υποδοχείς των κανναβινοειδών, ανευρίσκονται σε αρκετές περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως είναι το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και ο επικλινής πυρήνας, ρυθμίζοντας τη

γλουταμινεργική και τη GABAεργική νευροδιαβίβαση στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και την γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση στον επικλινή πυρήνα (Gardner, 2005).

Όπως είδαμε, ο κύριος μηχανισμός δράσης της αμφεταμίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα είναι η ενίσχυση της ντοπαμινεργικής δραστηριότητας, μέσω της αναστολής της επαναπρόσληψης της από το προσυναπτικό κύτταρο (Rothman & Baumann, 2003). Τα ευρήματα για την αλληλεπίδραση του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών με την αμφεταμίνη είναι αντικρουόμενα, με άλλες έρευνες να υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει σχέση, ενώ άλλες να εντοπίζουν αλληλεπιδράσεις. Για παράδειγμα οι Cossu, Ledent, Fattore, Imperato, Bohme, Parmentier και συν. (2001), στην έρευνά τους έδειξαν, ότι knock out ποντίκια για τον υποδοχέα CB1 των κανναβινοειδών αυτοχορηγούν κανονικά αμφεταμίνη, χωρίς να διαφέρουν από τα φυσιολογικά πειραματόζωα. Παρόμοια είναι και τα αποτελέσματα της έρευνας των Ellgren, Hurd και Franck (2004), οι οποίοι αναφέρουν ότι η προχορήγηση αγωνιστών για τους υποδοχείς των κανναβινοειδών, δεν επηρέασε να αλλάξει την ντοπαμινεργική και τη συμπεριφορική απόκριση στην αμφεταμίνη.

Από την άλλη πλευρά οι Parker, Burton, Sorge, Yakiwchuk και Mechoulam (2004), παρατήρησαν ότι η χορήγηση μικρών δόσεων της Δ^9 -THC και της κανναβιδιόλης, ευόδωσε την επαγόμενη από την αμφεταμίνη, απόσβεση της εξαρτημένης προτίμησης θέσης σε πειραματόζωα, αλλά παρόλα αυτά η επίδραση αυτή δεν αντιστράφηκε από την χορήγηση ενός ανταγωνιστή των υποδοχέων των κανναβινοειδών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει στο σημείο αυτό και το εύρημα των Thiermann, Di Marzo, Molleman και Hasenohrl (2008), οι οποίοι αναφέρουν ότι η προχορήγηση του ανταγωνιστή του υποδοχέα CB1 των κανναβινοειδών AM251, είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη ευαισθητοποίηση στις ψυχοκινητικές ιδιότητες της αμφεταμίνης σε πειραματόζωα, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, στην οποία τα πειραματόζωα δεν είχαν λάβει τον AM251. Επιπλέον, η προχορήγηση του AM251 είχε ως αποτέλεσμα τα αυξημένα επίπεδα ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα και σεροτονίνης στον ιππόκαμπο (Thiermann και συν., 2008). Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκε και η έρευνα των Masserano, Karoun και Wyatt (1999), οι οποίοι αναφέρουν ότι η χορήγηση του ανταγωνιστή του CB1 υποδοχέα των κανναβινοειδών SR 141716A, ενδυνάμωσε τις διεγερτικές κινητικές επιδράσεις στα πειραματόζωα, οι οποίες προκλήθηκαν από την χορήγηση αμφεταμίνης. Επιπροσθέτως οι Thiermann, van der Stelt, Petrosino, Molleman, Di Marzo και Hosenohrl (2008), αναφέρουν ένα μάλλον παράδοξο εύρημα. Ειδικότερα αναφέρουν ότι ο SR 141716A, ενδυνάμωσε την επαγόμενη από την αμφεταμίνη ευαισθητοποίηση, ενώ αντιθέτως knock out ποντίκια για τον CB1 υποδοχέα, παρουσίασαν πιο μειωμένη ευαισθητοποίηση στις ψυχοκινητικές ιδιότητες της αμφεταμίνης, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου.

Το ρυθμιστικό ρόλο της Δ^9 -THC στην ρύθμιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της αμφεταμίνης εξέτασαν και οι Gorriti, de Fonseca, Navarro και Palomo (1999). Ειδικότερα οι Gorriti και συν. (1999), αναφέρουν ότι η οξεία χορήγηση Δ^9 -THC στα πειραματόζωα, ανταγωνίστηκε την επαγόμενη από την

αμφεταμίνη αύξηση της κινητικής δραστηριότητας και της εξερεύνησης, ενώ αντιθέτως η χρόνια χορήγηση της Δ^9 -THC, είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανοχής σε αυτή την ανταγωνιστική δράση της Δ^9 -THC στην επαγόμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της κινητικότητας, αλλά η ανοχή δεν αναπτύχθηκε στην επαγόμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της εξερεύνησης των πειραματόζωων. Επιπροσθέτως η χρόνια χορήγηση της Δ^9 -THC είχε ως αποτέλεσμα την ενδυνάμωση των επαγόμενων από την αμφεταμίνη στερεοτυπιών. Επιπροσθέτως σύμφωνα με τους Gorruti και συν. (1999), σύνδρομο στέρησης μετά από 14 ημέρες λήψης της Δ^9 -THC, είχε ως αποτέλεσμα την ευαισθητοποίηση στις επιδράσεις της αμφεταμίνης στην κινητική δραστηριότητα, στην εξερεύνηση και στην εμφάνιση στερεοτυπιών. Σύμφωνα με τους Gorruti και συν. (1999), τα δεδομένα αυτά είναι πολύ σημαντικά, καθώς αναδεικνύουν τον πολύ σημαντικό ρόλο των CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών (καθώς η Δ^9 -THC έχει αγωνιστική δράση σε αυτούς τους υποδοχείς), στην ρύθμιση των επιδράσεων της αμφεταμίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα και κατ' επέκταση στον εθισμό σε αυτήν.

Οι Lamarque, Taghzouti και Simon (2001), αναφέρουν στην έρευνά τους την ανάπτυξη διασταυρούμενης ευαισθητοποίησης ανάμεσα στην Δ^9 -THC και την αμφεταμίνη. Αναλυτικότερα αναφέρουν, σε αντίθεση με τους Gorruti και συν. (1999), ότι η χρόνια χορήγηση της Δ^9 -THC, είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διασταυρούμενης συμπεριφορικής ευαισθητοποίησης ανάμεσα στην Δ^9 -THC και την αμφεταμίνη, αφού η προχορήγηση Δ^9 -THC στα πειραματόζωα, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιδράσεων της κοκαΐνης στην κινητική δραστηριότητα των πειραματόζωων. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφέρουμε ότι αυτή η διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση ανάμεσα στην Δ^9 -THC και στην αμφεταμίνη, παρατηρήθηκε τρεις ημέρες μετά την τελευταία χορήγηση της Δ^9 -THC και αφορούσε μόνο μια συγκεκριμένη ομάδα πειραματόζωων, τους high responders, οι οποίοι αποτελούν ένα πληθυσμό πειραματόζωων, ευαίσθητων στην ανάπτυξη εθισμού σε διάφορες εξαρτησιογόνες ουσίες (Lamarque και συν., 2001). Σε συμφωνία με τους Gorruti και συν. (1999), σχετικά με τις οξείες επιδράσεις της Δ^9 -THC στις επαγόμενες από την αμφεταμίνη συμπεριφορές, οι Muschamp και Siviuy (2002), υποστηρίζουν ότι η οξεία χορήγηση του αγωνιστή του υποδοχέα CB1 των κανναβινοειδών WIN 55,212-2, αρχικά αύξησε την κινητική δραστηριότητα, αλλά έπειτα μείωσε την επαγόμενη από την αμφεταμίνη αύξηση της κινητικότητας και της εξερεύνησης των πειραματόζωων σε επίμυες Lewis. Επιπλέον σύμφωνα με τους Muschamp και Siviuy (2002), η χρόνια χορήγηση του WIN 55,212-2, σε αντίθεση με τους Gorruti και συν. (1999) και σε συμφωνία με τους Lamarque και συν. (2001), είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη διασταυρούμενης ευαισθητοποίησης ανάμεσα στον WIN 55,212-2 και στην αμφεταμίνη. Αυτή η διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση ωστόσο αφορούσε μόνο την επαγόμενη από την αμφεταμίνη εξερεύνηση, καθώς η χρόνια χορήγηση του WIN 55,212-2, είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη αντίδραση στην αμφεταμίνη σε επίπεδο ανασηκώσεων και όχι μετακινήσεων, γεγονός που μεταφράζεται στην ανάπτυξη ευαισθητοποίησης στην εξερεύνηση, αν

σκεφτεί κανείς ότι οι ανασηκώσεις αποτελούν δείκτη μέτρησης της εξερεύνησης του πειραματόζωου (Muschamp & Sivi, 2002).

Σύμφωνα με τους Muschamp και Sivi (2002), οι διαφορές που παρατηρούνται ανάμεσα στις έρευνες που εξετάζουν τη σχέση της αμφεταμίνης με την Δ^9 -THC, πολύ πιθανότατα να οφείλονται στις διαφορετικές δόσεις των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται, αλλά και στο διαφορετικό είδος ή στέλεχος πειραματόζωου που χρησιμοποιείται και τέλος στην διαφορετική μεθοδολογική προσέγγιση της εκάστοτε έρευνας.

Από τα παραπάνω λοιπόν γίνεται κατανοητό ότι η Δ^9 -THC, αλλά και διάφορα άλλα φάρμακα που δρουν στο σύστημα των ενδογενών κανναβινοειδών παίζουν καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση των διαφόρων πτυχών του εθισμού στην αμφεταμίνη.

2.10. Επιγενετική

Τα τελευταία χρόνια ένα μεγάλο κομμάτι της βιβλιογραφίας έχει επικεντρωθεί στη μελέτη ενός φαινομένου που αφορά την κληρονόμηση διαφόρων χαρακτηριστικών στις επόμενες γενεές. Ένα μέρος αυτών των ερευνών έχει επικεντρωθεί στην διαγενεακή κληρονόμηση των χαρακτηριστικών των εθιστικών ουσιών. Ωστόσο, όπως φαίνεται από διάφορες έρευνες, δεν είναι όλες οι κληρονομήσιμες πληροφορίες που αφορούν τον εθισμό παρούσες στην αλληλουχία του DNA (Yohn, Bartolomei & Blendy, 2015, in press). Αυτές οι κληρονομήσιμες αλλαγές που δεν περιέχονται στην αλληλουχία του DNA, ονομάζονται επιγενετικές αλλαγές. Ουσιαστικά αναφερόμενοι στον όρο επιγενετική εννοούμε την μελέτη των κληρονομήσιμων αλλαγών στην έκφραση των γονιδίων χωρίς αλλαγές στην αλληλουχία του DNA (Jaenisch & Bird, 2003). Η επιγενετική περιλαμβάνει τόσο κληρονομήσιμες όσο και σταθερές αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων, οι οποίες συμβαίνουν χωρίς να αλλάζουν την αλληλουχία του DNA. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί ουσιαστικά μεταφράζουν τα περιβαλλοντικά ερεθίσματα σε σταθερές αλλαγές στη δομή της χρωματίνης που έχουν ως αποτέλεσμα είτε την ενεργοποίηση είτε την καταστολή της έκφρασης των γονιδίων (Jaenisch & Bird, 2003). Η επιγενετική αναδύθηκε με την είσοδο της νέας χημείας και την σταδιακή αποχώρηση του γενετικού αναγωγισμού, της τάσης δηλαδή να εξηγούν όλα τα φαινόμενα με όρους γενετικής. Τώρα πλέον οι επιστήμονες παρατήρησαν ότι το περιβάλλον είχε τη δυνατότητα να επιδρά στα γονίδια και να αλλάξει την έκφρασή τους και στο ίδιο πλαίσιο επανεξετάστηκε με διαφορετικούς όρους η λαμαρκική αντίληψη για την κληρονόμηση των επίκτητων χαρακτηριστικών (Nielsen, Utrankov, Reyes, Simons & Kosten, 2012). Με τον όρο περιβάλλον εννοούμε τη διατροφή, το άγχος, διάφορες χημικές ουσίες που μπορούν να επηρεάσουν τη λειτουργικότητα ενός οργανισμού αλλάζοντας τη φυσιολογία του (Hughes, 2014).

2.10.1. Επιγενετικοί μηχανισμοί

Το ερώτημα που τίθεται στο σημείο αυτό είναι με ποιους ακριβώς μηχανισμούς ασκεί τις δράσεις της η επιγενετική. Γι' αυτό και παρακάτω θα ακολουθήσει μια σύντομη περιγραφή των κυριότερων επιγενετικών μηχανισμών που έχουν μελετηθεί.

Ο επιγενετικός μηχανισμός που έχει μελετηθεί περισσότερο απ' όλους και για τον οποίο γνωρίζουμε τα πιο πολλά, είναι η μεθυλίωση του DNA. Η μεθυλίωση του DNA είναι ουσιαστικά η προσθήκη μιας μεθυλικής ομάδας –το οποίο είναι μια ομάδα ατόμων που αποτελείται από έναν άνθρακα και τρία υδρογόνα (CH₃)- σε μία από της τέσσερις βάσεις του DNA (αδερίνη, θυμίνη, γουανίνη και κυτοσίνη) (Suzuki & Bird, 2008). Η μεθυλίωση του DNA ουσιαστικά ρυθμίζει τη μεταγραφή των γονιδίων τροποποιώντας την πρόσβαση στους υποκινητές γονιδίων και σε διάφορες ρυθμιστικές περιοχές (Maze & Nestler, 2011). Ειδικότερα, η προσθήκη της μεθυλικής ομάδας έχει ως αποτέλεσμα τη συμπίεση της χρωματίνης, μιας νουκλεοπρωτεΐνης, η οποία είναι υπεύθυνη για το σχηματισμό των χρωμοσωμάτων (Maze & Nestler, 2011). Η συμπίεση αυτή της χρωματίνης συμβάλλει στην καταστολή της έκφρασης του γονιδίου, δηλαδή τα προϊόντα τα οποία κωδικοποιεί ένα γονίδιο, παύουν να παράγονται όταν αυτό μεθυλιωθεί. Αντιθέτως τα γονίδια που δεν έχουν μεθυλιωθεί παραμένουν ενεργά (Maze & Nestler, 2011). Σύμφωνα με τους Suzuki και Bird (2008), η μεθυλίωση του DNA συμβάλλει στη διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος εμποδίζοντας τη μεταγραφή επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του DNA.

Ένας άλλος σημαντικός επιγενετικός μηχανισμός είναι οι τροποποιήσεις της ιστόνης, οι οποίες περιλαμβάνουν ποικίλες αλλαγές όπως είναι η ακετυλίωση, η απακετυλίωση, η μεθυλίωση, η φωσφορυλίωση της ιστόνης κ.λ.π. (Martin & Zhang, 2007). Οι παραπάνω τροποποιήσεις είναι μετα-μεταφραστικές αλλαγές στις ιστόνες, τις σφαιρικές δηλαδή πρωτεΐνες που σχηματίζουν τη χρωματίνη και ταξινομούν το DNA σε νουκλεοσώματα (Martin & Zhang, 2007). Ανάλογα με την τροποποίηση που πραγματοποιείται κάθε φορά μπορούμε να έχουμε είτε καταστολή του γονιδίου είτε ενεργοποίησή του. Για παράδειγμα η ακετυλίωση της ιστόνης χαλαρώνει τη χρωματίνη και επιτρέπει την μεταγραφή του γονιδίου, ενώ η μεθυλίωση της ιστόνης μπορεί να προκαλέσει είτε καταστολή είτε ενεργοποίηση του γονιδίου, ανάλογα με το ακριβές αμινοξύ που μεθυλιώνεται (Martin & Zhang, 2007).

Όσον αφορά τη χρωματίνη αυτή αποτελείται από DNA τυλιγμένο γύρω από πρωτεΐνες ιστόνης. Οι μηχανισμοί έκφρασης ενός γονιδίου, δηλαδή η επίδραση στην αλληλουχία του DNA και η επιρροή στους υποκινητές γονιδίων, καθορίζονται από τη χρωματίνη (Berger, 2007). Η χρωματίνη τώρα συναντάται σε δύο διαφορετικές μορφές, ανάλογα με την πυκνότητά της. Αυτές είναι η ετεροχρωματίνη που σχετίζεται με ανενεργή έκφραση γονιδίων, εξαιτίας της στενής σύνδεσης του DNA γύρω από τους πυρήνες των ιστονών και η ευχρωματίνη που σχετίζεται με την ενεργό έκφραση γονιδίων, εξαιτίας της πιο χαλαρής σύνδεσης του DNA στις ιστόνες. Οι παραπάνω επιγενετικές αλλαγές στις οποίες αναφερθήκαμε, αλλάζουν τη δομή της χρωματίνης και κατ' επέκταση

επιηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων επιτρέποντας στα κύτταρα να αποκρίνονται και να προσαρμόζονται στα διάφορα περιβαλλοντικά ερεθίσματα (Berger, 2007).

Σύμφωνα με τους Martin και Zhang (2007), ένας τρίτος επιγενετικός μηχανισμός είναι η ύπαρξη μικρο-RNAs (miRNAs), τα οποία είναι μονής αλυσίδας τμήματα RNA που δεν είναι υπεύθυνα για πρωτεϊνοσύνθεση, καθώς δε μεταφέρουν κώδικες, αλλά ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση των γονιδίων δεσμεύοντας περιοχές αγγελιοφόρων RNA (mRNAs). Προκειται όπως καταλαβαίνουμε για μεταγραφικές και μετα-μεταγραφικές παρεμβάσεις και αλλαγές.

2.10.2. Επιγενετική και εθιστικές ουσίες

Οι επιγενετικές αλλαγές που αναφέρθηκαν παραπάνω, έχουν παρατηρηθεί και μετά από τη χρήση εθιστικών ουσιών. Για παράδειγμα οι Renthal και Nestler (2008), αναφέρουν ότι η επαναλαμβανόμενη έκθεση στην κοκαΐνη, προκαλεί αλλαγές στα επίπεδα φωσφορυλίωσης, ακετυλίωσης και μεθυλίωσης της ιστόνης, καθώς και αλλαγές στα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA στον επικλινή πυρήνα, και υποστηρίζουν ότι αυτές οι αλλαγές εμπλέκονται στον καθορισμό των επαγόμενων από τις εθιστικές ουσίες συμπεριφορών. Παρομοίως η οξεία χορήγηση κοκαΐνης αύξησε γρήγορα (μέσα σε 30 λεπτά) την ακετυλίωση της εγγύτερης περιοχής των υποκινητών των γονιδίων στον επικλινή πυρήνα, αλλά η δράση της ήταν παροδική (εξαφανίστηκε μετά από 3 ώρες) (Kumar, Choi, Renthal, Tankova, Theobald, Truong και συν., 2005). Από την άλλη πλευρά οι Brami-Cherrier, Valjent, Herve, Darragh, Corvol, Pages και συν. (2005), αναφέρουν ότι αρκετοί υποκινητές γονιδίων, έμειναν ανεπηρρέαστοι από την οξεία χορήγηση κοκαΐνης, παρ' όλα αυτά παρατηρήθηκε παροδική αύξηση της ακετυλίωσης της ιστόνης H4 και της φωσφορυλίωσης της ιστόνης H3 μετά την χορήγηση κοκαΐνης. Αυτές οι παροδικές αλλαγές στις ιστόνες, επιηρεάζουν μια υποομάδα γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση των εθιστικών συμπεριφορών (Brami-Cherrier και συν., 2005). Παρόμοιες αλλαγές στις ιστόνες αναφέρονται και στον προμετωπιαίο φλοιό επίμυων, οι οποίοι κατά την εφηβεία τους είχαν εκτεθεί σε κοκαΐνη (Black, McLaren, Naydenov, Carlezon, Baxter και συν., 2006).

Όσον αφορά τη χρόνια έκθεση κοκαΐνης τώρα, είτε χορηγείται από τον πειραματιστή είτε αυτοχορηγείται από το πειραματόζωο, αυτή δύναται να επάγει την έκφραση μιας ομάδας γονιδίων στον επικλινή πυρήνα, όπως είναι για παράδειγμα το *bdnf* και το *cdk5* (Kumar και συν., 2005). Ειδικότερα σύμφωνα με τους Kumar και συν. (2005), παράλληλα με αυτές τις αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων αυξάνονται και τα επίπεδα ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στους υποκινητές των γονιδίων *bdnf* και *cdk5* από 1 έως 7 ημέρες μετά την έκθεση σε κοκαΐνη. Επιπλέον, ενδιαφέρον παρουσιάζει το εύρημα ότι παρόμοιες αλλαγές στην ακετυλίωση των ιστονών και στην έκφραση των γονιδίων, παρατηρήθηκαν και στον προμετωπιαίο φλοιό μετά από μακρές περιόδους συνδρόμου στέρησης από την κοκαΐνη (Feeman, Patel, Brucklacher, Lull, Erwin, Morgan και συν., 2008).

2.11. Διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα

Το ερώτημα όμως που τίθεται στο σημείο αυτό είναι πως περνούν αυτές οι επιγενετικές αλλαγές στις επόμενες γενεές. Όπως είναι γνωστό τα διάφορα χαρακτηριστικά που εμπεριέχονται στην αλληλουχία του DNA κληρονομούνται στις επόμενες γενεές μέσω της βλαστικής σειράς, η οποία έχει διπλή σημασία. Με τον όρο βλαστική σειρά εννοούμε μια αλληλουχία κυττάρων από τα οποία θα αναπτυχθούν είτε σε ωάρια είτε σε σπερματοζωάρια, αλλά εννοούμε επίσης και το γενετικό υλικό που προέρχεται από τα ωάρια και τα σπερματοζωάρια και το οποίο κληρονομείται στους απογόνους (Skinner, 2011). Οι παραπάνω επιγενετικές αλλαγές που αναφέρθηκαν αποτελούν το επιγένωμα. Όσον αφορά τις επιγενετικές αλλαγές, αυτές μέχρι προσφάτως εθεωρείτο ότι διαγράφονταν στη βλαστική σειρά και επανέρχονταν στην αρχική τους μορφή στις επόμενες γενιές (Skinner, 2011). Ωστόσο, νέα πειραματικά δεδομένα των τελευταίων χρόνων, έδειξαν ότι η διαγραφή αυτή των επιγενετικών αλλαγών δεν είναι πλήρης και ότι ένα μέρος αυτών των αλλαγών που συμβαίνει σε κάποια γενιά, μπορεί να κληρονομηθεί μέσω της βλαστικής σειράς στις επόμενες γενεές. Το φαινόμενο αυτό έγινε γνωστό με τον όρο διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και αναφέρεται στην κληρονόμηση των διαφόρων επιγενετικών αλλαγών (Skinner, 2011· Skinner & Guerrero-Basanga, 2009). Προκειμένου όμως να ισχύει η διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα, θα πρέπει να έχουμε μεταφορά του επιγνώματος στην βλαστική σειρά, χωρίς την άμεση παρουσία των περιβαλλοντικών ερεθισμάτων που προκάλεσαν τις επιγενετικές αλλαγές. Σύμφωνα με τον Skinner (2011) αυτές οι επιγενετικές αλλαγές που περνούν στη βλαστική σειρά, μπορεί να είναι μόνιμες περνώντας έτσι τους επηρεασμένους φαινότυπους και τα χαρακτηριστικά στις επόμενες γενεές.

Προκειμένου όμως να γίνει περισσότερο κατανοητό το φαινόμενο της επιγενετικής κληρονομικότητας ας αναφέρουμε συνοπτικά ορισμένα παραδείγματα. Χαρακτηριστικά στο άρθρο του Hughes (2014), αναφέρεται ότι αρσενικά ποντίκια εκτέθηκαν σε ακετοφαινόνη, μια χημική ουσία με μυρωδιά παρόμοια με αυτή του αμυγδάλου, και τους χορηγούσαν ένα ήπιο ηλεκτρικό ερέθισμα στα πόδια. Μετά την πάροδο τριών ημερών και εφόσον είχε προκληθεί εξαρτημένη μάθηση φόβου, τα αρσενικά ποντίκια πάγωναν στη παρουσία της ακετοφαινόνης ακόμα και αν δεν τους χορηγούνταν ηλεκτρικό ερέθισμα. Εν συνεχεία σύμφωνα με τον Hughes (2014), μετά το πέρας δέκα ημερών τα F0 (η γενιά που υφίσταται τον πειραματικό χειρισμό) ποντίκια τοποθετήθηκαν για ζευγάρι με θηλυκά ποντίκια που δεν είχαν υποστεί παρόμοια πειραματικό χειρισμό. Όταν τα F1 (η πρώτη γενιά μετά την F0 γενιά, τα παιδιά της F0 γενιάς) ποντίκια ενηλικιώθηκαν, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι ήταν πιο ευαίσθητα στην παρουσία της ακετοφαινόνης σε σχέση με τα F1 ποντίκια της ομάδας ελέγχου, των οποίων οι γονείς δεν είχαν εκτεθεί σε ακετοφαινόνη. Ενδιαφέρον ωστόσο παρουσιάζει το εύρημα ότι τα F2 (η δεύτερη γενιά μετά την F0 γενιά, τα εγγόνια της F0 γενιάς και παιδιά της F1 γενιάς) ποντίκια, όταν εκπαιδεύτηκαν να φοβούνται την ακετοφαινόνη, ήταν πιο νευρικά στην παρουσία της σε σχέση με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου. Ακόμη σύμφωνα με τον Hughes (2014) και στις

τρεις γενιές πειραματοζώων (F0, F1 και F2) παρατηρήθηκε μεγαλύτερο μέγεθος των M71 σπειραμάτων, μιας περιοχής όπου οι ευαίσθητοι στην ακετοφαινόνη νευρώνες της μύτης συνδέονται με νευρώνες του οσφρητικού βολβού. Τέλος σύμφωνα με του ερευνητές αυτή η κληρονομία των περιβαλλοντικών πληροφοριών, ήταν αποτέλεσμα της επιγενετικής, χημικών δηλαδή αλλαγών στο γονιδίωμα που επηρεάζουν τον τρόπο που αποθηκεύεται και εκφράζεται το DNA χωρίς να επεμβαίνουν στην αλληλουχία του.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό παράδειγμα διαγενεακής επιγενετικής κληρονομικότητας, αναπτύχθηκε στην προσπάθεια να εξεταστεί το στρες χωρίς στη ζωή του ατόμου και πιο συγκεκριμένα το στρες εξαιτίας της μητρικής αποστέρησης. Οι Franklin, Russig, Weiss, Graff, Linder, Michalon και συν. (2010) εκθέτοντας αρσενικά ποντίκια σε στρες μητρικής αποστέρησης κατά την μεταγεννητική ημέρα 1 έως 14, παρατήρησαν ότι κατά την ενηλικίωση τους εμφάνισαν καταθλιπτικά συμπτώματα και αλλαγμένη συμπεριφορική απόκριση σε αποστροφικά περιβάλλοντα. Ενδιαφέρον όμως παρουσιάζει το γεγονός ότι οι F1 απόγονοι των συγκεκριμένων αρσενικών, παρουσίασαν τις ίδιες συμπεριφορές παρά το γεγονός ότι δεν είχαν εκτεθεί άμεσα σε στρες μητρικής αποστέρησης (Franklin και συν., 2010). Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι Dietz, Laplant, Watts, Hodes, Russo, Feng και συν. (2011), οι οποίοι χρησιμοποιώντας το χρόνιο στρες κοινωνικής υποταγής σε ενήλικους αρσενικούς επίμυες, παρατήρησαν ότι οι F1 απογονοί τους, τόσο οι θηλυκοί όσο και οι αρσενικοί παρουσίαζαν αυξημένο άγχος και καταθλιπτικά συμπτώματα, όπως φάνηκε από τις διάφορες δοκιμασίες αξιολόγησης.

Ένας άλλος παράγοντας που φαίνεται ότι υπόκειται στη διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα, είναι η διατροφή των γονέων. Για παράδειγμα οι Binder, Mitchell και Gardner (2012), παρατήρησαν ότι οι F1 απόγονοι αρσενικών ποντικών που ακολούθησαν κατά τη διάρκεια της ζωής τους δίαιτα υψηλή σε λιπαρά, παρουσίασαν αρκετά προβλήματα που σχετίζονταν με τη διατροφή κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Παρομοίως οι Fullston, Palmer, Owens, Mitchell, Bakos, Lane και συν. (2012), αναφέρουν ότι τα παιδιά αλλά και τα εγγόνια αρσενικών ποντικών που ακολούθησαν διατροφή υψηλή σε λιπαρά, παρουσίασαν υπογονιμότητα, τόσο οι αρσενικοί όσο και οι θηλυκοί απόγονοι.

Στη βιβλιογραφία αρκετά συχνά συναντάμε τους όρους διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και πολυγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και προκειμένου να αποφύγουμε τυχόν προβλήματα κατανόησης, καλό θα ήταν να διασαφηνίσουμε αυτούς τους όρους. Όπως είδαμε και παραπάνω η επιγενετική διαγενεακή κληρονομία διαμεσολαβείται από την βλαστική σειρά, απουσία άμεσης ή έμμεσης έκθεσης στο περιβαλλοντικό ερέθισμα που προκάλεσε τις επιγενετικές αλλαγές (Skinner, 2011). Απ' την άλλη πλευρά σύμφωνα με τον Skinner (2008), υπάρχει και ένα άλλο είδος επιγενετικής κληρονομίας που ονομάζεται πολυγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και στο οποίο οι διάφοροι φαινότυποι που προκύπτουν προέρχονται από άμεση ή έμμεση έκθεση στο

περιβαλλοντικό ερέθισμα και εν προκειμένω στην εκάστοτε εθιστική ουσία. Για παράδειγμα εάν F0 θηλυκά ή αρσενικά πειραματόζωα εκτεθούν σε μία ουσία πριν την εγκυμοσύνη, η βλαστική σειρά από την οποία θα δημιουργηθεί το γεννητικό υλικό των F1 απογόνων εκτίθεται στην ουσία και κατ' επέκταση εκτίθενται στην ουσία και οι F1 απόγονοι. Αυτό αποτελεί ένα παράδειγμα πολυγενεακής επιγενετικής κληρονομιάς. Για να μελετήσουμε εδώ διαγενεακή επιγενετική κληρονομιά, θα πρέπει να ελέγξουμε τους F2 απογόνους, των οποίων τα κύτταρα δεν εκτέθηκαν στην ουσία (Skinner, 2008).

Σύμφωνα με τον Skinner (2008), εάν η έκθεση στην εκάστοτε ουσία γίνει σε F0 θηλυκά κατά τη διάρκεια της κύησης, τότε οι F1 απόγονοι εκτίθενται απευθείας στο φάρμακο στη μήτρα της μητέρας τους. Οι F2 απόγονοι εκτίθενται και αυτοί εμμέσως στο φάρμακο, καθώς τα κύτταρά τους έχουν δημιουργηθεί από την εκτεθειμένη βλαστική σειρά των F1 πειραματόζωων. Μέχρι την F2 γενιά μελετούμε πολυγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα. Για να μελετήσουμε διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα θα πρέπει να ελέγξουμε τους F3 απογόνους των οποίων τα κύτταρα δεν εκτέθηκαν ούτε άμεσα ούτε έμμεσα στην ουσία (Skinner, 2008).

2.12. Διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα και εθιστικές ουσίες

Είναι γνωστό μέσα από διάφορες έρευνες ότι ο εθισμός στις ουσίες ή πιο σωστά η ευαλωτότητα για την ανάπτυξη εθισμού σε μια ουσία μπορεί να κληρονομηθεί μέσω διαφόρων γενετικών μηχανισμών. Πιο συγκεκριμένα οι διάφοροι εθισμοί χαρακτηρίζονται από μέτρια έως υψηλή κληρονομικότητα, καθώς προϋποθέτουν τη χρήση της ουσίας, μια επιλογή που καθορίζεται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Goldman, Oroszi & Ducci, 2005). Είναι χαρακτηριστικό ότι οι συγγενείς ατόμων εθισμένων σε ουσίες έχουν οκταπλάσια αύξηση της πιθανότητας να εθιστούν σε ένα πλήθος ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των οπιούχων, της κοκαΐνης, της κάνναβης και του αλκοόλ (Merikangas, Stolar, Stevens, Goulet, Preisling, Fenton και συν., 1998). Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η έρευνα των Tsuang, Bar, Harley και Lyons (2001), που διεξήγαγαν σε διδύμους που υπηρέτησαν στον στρατό των Η.Π.Α από το 1965 έως το 1975 και οι οποίοι ήταν εθισμένοι είτε σε κάποια νόμιμη είτε σε κάποια παράνομη ουσία. Ειδικότερα οι Tsuang και συν. (2001), αναφέρουν ότι ο εθισμός σε παράνομες ουσίες επηρεάζεται και από γενετικούς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι τα γονίδια και η γενετική παίζουν σημαντικό ρόλο στην μεταβίβαση των χαρακτηριστικών των εθιστικών ουσιών και κατ' επέκταση στον εθισμό σε αυτές ανά τις γενεές. Ωστόσο όπως αναλύσαμε και παραπάνω η κληρονομιά των διαφόρων χαρακτηριστικών, συμπεριλαμβανομένων και αυτών των εθιστικών ουσιών, δεν συμβαίνουν μόνο μέσα από την αλληλουχία του DNA. Αντιθέτως όπως είδαμε οι γονείς δύναται να κληρονομήσουν στα παιδιά τους και διάφορες επιγενετικές πληροφορίες, χημικές δηλαδή αλλαγές που μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των γονιδίων. Παρακάτω θα προβούμε σε μια

εκτενή ανάλυση των κυριότερων ψυχοτρόπων ουσιών που έχει βρεθεί ότι υπόκεινται σε πολυγενεακή και διαγενεακή επιγενετική κληρονομηση.

2.12.1. Αλκοόλ

Η αιθυλική αλκοόλη ή αιθανόλη είναι μια ψυχοτρόπος ουσία με κατασταλτική δράση. Η αιθανόλη είναι ένας αναστολέας της λειτουργίας των NMDA υποδοχέων του γλουταμινικού οξέος (Tsai, Guochuan, David, Gastfriend & Coyle, 1995). Ειδικότερα η αιθανόλη καταστέλλει την απαντητικότητα των NMDA μετά την απελευθέρωση του γλουταμινικού, διαταράσσοντας μ' αυτόν τον τρόπο τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση (Tsai και συν., 1995). Πέρα όμως από τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση, η αιθανόλη δρα ενισχύοντας τη GABAεργική, ανασταλτική νευροδιαβίβαση (Feldman, Meyer, Quenzer & Cooper, 1997). Ουσιαστικά σύμφωνα με τους Feldman και συν. (1997), η αιθανόλη ενεργοποιεί την αύξηση των ιόντων χλωρίου στο νευρικό κύτταρο, η οποία διαμεσολαβείται από το GABA, με αποτέλεσμα τη νευρική αναστολή. Τέλος η αιθανόλη προσδένεται σε διαφορετική θέση στην υπομονάδα του GABAA υποδοχέα σε σχέση με άλλους αγωνιστές του GABA και το ίδιο το GABA (Feldman και συν., 1997).

Σε γενετικό επίπεδο, αρκετές μελέτες έχουν εντοπίσει γονίδια υπεύθυνα για την εκδήλωση του αλκοολισμού. Οι Demers, Bogdan και Agrawal (2014), αναφέρουν ότι πολυμορφισμοί στην αλκοολική αφυδρογονάση, ένα ένζυμο που μετατρέπει την αλκοόλη σε ακεταλδεύδη και στην αλδεϋδική αφυδρογονάση συνδέονται με την κατανάλωση του αλκοόλ. Επίσης σύμφωνα με τους Demers και συν. (2014), για τον αλκοολισμό έχει ενοχοποιηθεί και το γονίδιο GABRA2, το οποίο κωδικεύει την υπομονάδα α2 του GABAA υποδοχέα. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Kreek, Nielsen και LaForge (2004), υποδεικνύοντας ότι τα γονίδια ADH1B, ADH1C και ALDH2, τα οποία είναι υπεύθυνα για τον μεταβολισμό του αλκοόλ, εμπλέκονται στην κληρονομική διάσταση του αλκοολισμού, ενώ μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει και το εύρημα ότι τα γονίδια άλλων νευροδιαβιβαστικών συστημάτων, όπως των σεροτονινεργικών, των ντοπαμινεργικών, των νοραδρενεργικών κ.α., δύναται να επηρεάσουν την πιθανότητα χρήσης του αλκοόλ.

Τα γονίδια όμως παρ' όλο που εξηγούν ένα μεγάλο μέρος της κληρονομικής διάστασης του αλκοόλ, δεν καλύπτουν πλήρως το φάσμα της κληρονομικότητας στο αλκοόλ. Το κενό αυτό έρχονται να καλύψουν οι διάφορες έρευνες πάνω στη διαγενεακή και πολυγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα των ιδιοτήτων του αλκοόλ.

Αρκετές μελέτες σε ζώα αναλύουν τη διαγενεακή και πολυγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα των εθιστικών ιδιοτήτων του αλκοόλ. Σε μια ενδιαφέρουσα μελέτη οι Kim, Choi, Park, Joo, Kim, Ko και συν. (2014), χορήγησαν σε αρσενικά ποντίκια αλκοόλ πριν τοποθετηθούν για ζευγάρι με θηλυκά ελεύθερα από το αλκοόλ και παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί απόγονοί τους, εμφάνιζαν συμπτώματα διαταραχής ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ), καθώς και αυξημένη παρορμητική συμπεριφορά σε σχέση με τα F1 ποντίκια της ομάδας ελέγχου, των

οποίων οι πατέρες δεν είχαν εκτεθεί στο αλκοόλ. Σε νευροχημικό επίπεδο οι Kim και συν. (2014), αναφέρουν ότι η έκφραση της πρωτεΐνης και του mRNA του μεταφορέα της ντοπαμίνης, ενός μεταφορέα που εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της ΔΕΠΥ, ήταν σημαντικά μειωμένη στο φλοιό και στο ραβδωτό των F1 πειραματοζώων, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ. Επίσης παρατηρήθηκε στους F1 απογόνους αυξημένη μεθυλίωση της περιοχής CpG του υποκινητή γονιδίου του DAT, ενώ αυτή η αύξηση της μεθυλίωσης παρατηρήθηκε και στο σπέρμα των πειραματοζώων, εκτός από το φλοιό και το ραβδωτό (Kim και συν., 2014). Παρόμοιες αλλαγές στη συμπεριφορά των F1 πειραματοζώων μετά από έκθεση των F0 γονέων τους σε αλκοόλ, αναφέρονται και στην έρευνα των Meek, Myren, Sturm και Bureau (2007), οι οποίοι ακολουθώντας παρόμοια μεθοδολογία με τους προηγούμενους, παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί επίμυες, των οποίων οι F0 πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εφηβείας τους, παρουσίασαν κατά την ενηλικίωσή τους πιο έντονη επιθετική συμπεριφορά και είχαν λιγότερα συμπτώματα φόβου από τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου. Επιπροσθέτως, τα αρσενικά της F1 γενιάς, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ, παρουσίασαν και κάποια αναπτυξιακά προβλήματα (π.χ χαμηλότερο βάρος γέννησης), τα οποία δεν παρατηρήθηκαν στα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου (Meek και συν., 2007).

Το αλκοόλ φαίνεται επίσης πως επιδρά διαγενεακά και στις γνωστικές διεργασίες των απογόνων. Οι Wozniack, Cicero, Kettringer και Meyer (1991), παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί επίμυες, F0 πατέρων οι οποίοι είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ κατά την εφηβεία τους, ως ενήλικα παρουσίασαν διαταραγμένη χωρική μνήμη, όπως φάνηκε από τη δοκιμασία του ακτινωτού λαβυρίνθου σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ σε αντίθεση με τους Meek και συν. (2007), δεν παρατήρησαν αναπτυξιακές διαταραχές στα F1 πειραματόζωα της πειραματικής ομάδας. Παρομοίως οι Abel και Lee (1988), δεν παρατήρησαν αλλαγές στην ανάπτυξη των F1 αρσενικών ποντικών, τα οποία προέρχονταν από F0 πατέρες που είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ, αλλά παρατήρησαν ότι τα F1 αρσενικά ποντικά, είχαν καλύτερη επίδοση σε μια δοκιμασία εκμάθησης της παθητικής αποφυγής, αλλά είχαν χειρότερη επίδοση σε μια δοκιμασία σε λαβύρινθο σχήματος T. Όσον αφορά τη δοκιμασία εκμάθησης της παθητικής αποφυγής ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ευρήματα των Abel και Tan (1988), τα οποία έρχονται σε σύγκρουση με τους προηγούμενους ερευνητές. Πιο συγκεκριμένα οι Abel και Tan (1988), παρατήρησαν ότι οι F1 θηλυκοί επίμυες, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ, είχαν χειρότερη επίδοση σε μια δοκιμασία εκμάθησης της παθητικής αποφυγής. Παρομοίως ο Abel (1994), ελέγχοντας F1 αρσενικούς επίμυες, στους πατέρες των οποίων είχε χορηγηθεί αλκοόλ, χρειάστηκαν περισσότερο χρόνο για να μάθουν μια δοκιμασία παθητικής αποφυγής σε σχέση με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου. Γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι η επίδοση σε δοκιμασίες εκμάθησης της παθητικής αποφυγής στην γενιά, επηρεάζονται με διαφορετικό τρόπο από το αλκοόλ που κατανάλωσαν οι πατέρες τους ανάλογα με το φύλο των πειραματοζώων που χρησιμοποιούνται στην εκάστοτε έρευνα.

Παραμένοντας στις διαγενεακές και πολυγενεακές επιδράσεις του αλκοόλ σε συμπεριφορικό επίπεδο, ένας άλλος τομέας που επηρεάζεται από την γονική έκθεση στο αλκοόλ, είναι η κινητικότητα. Πιο συγκεκριμένα, ο Abel (1994) αναφέρει ότι οι F1 αρσενικοί επίμυες, των οποίων οι F0 πατέρες είχαν εκτεθεί στο αλκοόλ, ήταν πιο δραστήριοι κατά την εκτίμηση της κινητικότητάς τους στο ανοιχτό πεδίο όταν έλαβαν έκδοχο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ενώ όταν έλαβαν φυσοστυγμίνη, έναν αναστολέα της χολινεστεράσης, δεν διέφεραν από την ομάδα ελέγχου. Φαίνεται λοιπόν πως το αλκοόλ που λαμβάνουν οι F0 πατέρες, επηρεάζει την κινητική δραστηριότητα των F1 αρσενικών απογόνων τους και αυτή η επίδραση διαμεσολαβείται από το χολινεργικό σύστημα.

Τη μελέτη των διαγενεακών επιδράσεων του αλκοόλ στην κινητική δραστηριότητα, μελέτησε και ο Abel (1993), οποίος στην έρευνά του αναφέρει ότι η πατρική έκθεση στο αλκοόλ έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη κινητικότητα στην F1 γενιά των αρσενικών επίμυων, καθώς και αυξημένη ευαισθησία στην αμφεταμίνη. Σύμφωνα με τον Abel (1993), αυτή η πατρική επίδραση στην κινητική δραστηριότητα της F1 γενιάς, είναι πολύ πιθανόν να διαμεσολαβείται από την κατεχολαμινεργική νευροδιαβίβαση.

Οι Finegash και Homanics (2014), μελέτησαν στην έρευνα τους ποικίλες διαγενεακές επιδράσεις του αλκοόλ στην συμπεριφορά των απογόνων. Ειδικότερα αναφέρουν ότι η πατρική έκθεση σε αλκοόλ είχε σαν αποτέλεσμα μειωμένη προτίμηση στο αλκοόλ, καθώς επίσης και μειωμένη κατανάλωση του αλκοόλ στην F1 γενιά των αρσενικών ποντικών. Επίσης αναφέρεται πως η γενιά των F1 αρσενικών ποντικών παρουσίασε αυξημένη ευαισθησία στις αγχολυτικές και κινητικές επιδράσεις της αιθανόλης. Παρούσες σύμφωνα με τους Finegash και Homanics (2014), ήταν και μεταβολικές επιδράσεις του αλκοόλ, καθώς το βάρος των F1 αρσενικών ποντικών, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ, ήταν χαμηλότερο από αυτό της ομάδας ελέγχου, η οποία αποτελούταν από ζώα, των οποίων οι πατέρες δεν είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ. Ενδιαφέρον παρουσιάζει στο σημείο αυτό, το γεγονός ότι τα θηλυκά ποντίκια της γενιάς, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί στο αλκοόλ, δεν παρουσίασαν καμία από τις παραπάνω επιδράσεις που αναφέρθηκαν για τα αρσενικά ποντίκια, καθώς δεν διέφεραν από τα θηλυκά της ομάδας ελέγχου σε καμία από τις παραπάνω παραμέτρους. Παράλληλα οι Finegash και Homanics (2014) σε νευροχημικό επίπεδο, οι F1 γενιά των αρσενικών επίμυων παρουσίασε αυξημένη έκφραση του γονιδίου *bdnf* στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και ακόμη αναφέρεται και επαγωγή από το αλκοόλ της μεθυλίωσης του DNA του υποκινητή του γονιδίου *bdnf*.

Σε μία άλλη ενδιαφέρουσα έρευνα ο Abel (1989), έλεγξε τις επιδράσεις στην F1 γενιά και της πατρικής και της μητρικής χρήσης αλκοόλ σε δύο σειρές επιμύων, σε Long Evans και σε Spargue Dawley επίμυες. Ωστόσο στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί το γεγονός ότι οι μητέρες εκτέθηκαν στο αλκοόλ κατά τη διάρκεια της κύησης και όχι πριν. Σύμφωνα με τον Abel (1989) η έκθεση σε αλκοόλ των αρσενικών επίμυων, είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα επίπεδα τεστοστερόνης και διάφορες

αλλαγές στην κινητικότητα στην F1 γενιά. Όσον αφορά τη δραστηριότητα των πειραματοζώων, αυτή ήταν μειωμένη για τα πειραματοζώα, των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει αλκοόλ σε περιεκτικότητα 35% και 17.5% στους επίμυες Long Evans. Από την άλλη πλευρά στους Spargue Dawley επίμυες η δραστηριότητα ήταν μειωμένη στους F1 επίμυες, των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει αλκοόλ σε περιεκτικότητα 17.5%, αλλά αυξήθηκε στους F1 επίμυες των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει αλκοόλ σε περιεκτικότητα 35%. Από την άλλη πλευρά σύμφωνα με τον Abel (1989), η μητρική κατανάλωση αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, συσχετίστηκε με χαμηλότερο βάρος γέννησης, χαμηλότερο βάρος κατά την περίοδο του απογαλακτισμού, αυξημένη μεταγεννητική θνησιμότητα και φτωχότερη εκμάθηση της παθητικής αποφυγής στην F1 γενιά, ενώ δεν επηρεάστηκε καθόλου η δραστηριότητα της F1 γενιάς. Γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι οι διαγενεακές επιδράσεις του αλκοόλ, πέρα από το φύλο όπως είδαμε παραπάνω, μπορούν να επηρεαστούν και από το στέλεχος των πειραματοζώων που χρησιμοποιείται στην εκάστοτε έρευνα.

Σε διαφορετικό μήκος κύματος κινήθηκε η έρευνα του Abel (1991), ο οποίος έλεγξε την επίδραση του αλκοόλ σε μια διαφορετική συμπεριφορά που παρατηρείται συχνά στα πειραματοζώα, την αυτοπεριποίηση. Αναλυτικότερα ο Abel (1991) στην έρευνα του αναφέρει ότι οι F1 αρσενικοί επίμυες, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ, αυτοπεριποιήθηκαν τον εαυτό τους σημαντικά λιγότερο, μετά την βύθιση τους σε νερό για 15 δευτερόλεπτα, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Μια μάλλον παράδοξη διαγενεακή επίδραση του αλκοόλ στη συμπεριφορά της F1 γενιάς μελετήθηκε στην έρευνα των Abel και Bilitzke (1990), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η χορήγηση αλκοόλ σε αρσενικούς επίμυες πριν τοποθετηθούν για ζευγάρι με θηλυκά ελεύθερα από το αλκοόλ, έχει σαν αποτέλεσμα μειωμένη ακινησία σε μια δοκιμασία εξαναγκασμένης κολύμβησης στην F1 γενιά των αρσενικών επίμυων, ενώ αντιθέτως ακολουθώντας το ίδιο πειραματικό πρωτόκολλο για ποντίκια, παρατήρησαν αντίστροφη επίδραση, δηλαδή αυξημένη ακινησία σε μια δοκιμασία εξαναγκασμένης κολύμβησης στην F1 γενιά των αρσενικών.

Πέρα όμως από τις παραπάνω αλλαγές, στις έρευνες που μελετούν τις διαγενεακές επιδράσεις του αλκοόλ, αναφέρονται και επιδράσεις σε διάφορες εσωτερικές δομές και όργανα.

Ο Abel (1993), αναφέρει αλλαγές στο μέγεθος διαφόρων οργάνων σε F1 αρσενικούς επίμυες, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε αλκοόλ κατά την εφηβεία τους. Πιο συγκεκριμένα στην έρευνά του αναφέρονται αλλαγές που περιλαμβάνουν αυξημένο βάρος των επινεφριδίων κατά την γέννηση και μειωμένο βάρος της σπλήνας 21 ημέρες μετά τη γέννηση. Σε μια παρόμοια έρευνα οι Cicero, Adams, O'Connor, Nock, Meyer και Wozniack (1990), εξέθεσαν ανήλικα αρσενικά ποντίκια σε αλκοόλ και κατά την ενηλικίωσή τους τα τοποθέτησαν για ζευγάρι με θηλυκά ελεύθερα από το αλκοόλ. Εν συνεχεία, παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί απόγονοι είχαν σημαντικά χαμηλότερο βάρος των σπερματικών κυστιδίων, χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης, αλλά και πολύ χαμηλότερα επίπεδα

β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ενδιαφέρον, ωστόσο, σύμφωνα με τους Cicero και συν. (1990), παρουσιάζει το εύρημα ότι η ηλικία των F0 αρσενικών, τα οποία εκτέθηκαν στο αλκοόλ, παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στις διαγενεακές επιδράσεις, καθώς παράλληλα με τα F0 αρσενικά που δέχτηκαν το αλκοόλ κατά την εφηβεία τους, υπήρχε και μια δεύτερη ομάδα F0 αρσενικών, τα οποία εκτέθηκαν στο αλκοόλ κατά την ενηλικίωσή τους και των οποίων οι F1 απόγονοι δεν είχαν τόσο εμφανείς διαγενεακές επιδράσεις, όσο οι F1 απόγονοι των αρσενικών που τους χορηγήθηκε το αλκοόλ στην εφηβεία τους.

Μέχρι στιγμής, οι περισσότερες έρευνες στις οποίες αναφερθήκαμε εξετάζουν τις διαγενεολογικές επιδράσεις του αλκοόλ μετά από έκθεση αρσενικών σε αλκοόλ. Ας δούμε όμως τώρα και μία έρευνα στην οποία η έκθεση στο αλκοόλ, έγινε σε θηλυκά πειραματόζωα και μάλιστα κατά τη διάρκεια της κύησης. Οι Gonorko, Bekdash, Zhang και Sarkar (2012), παρατήρησαν ότι η χορήγηση αλκοόλ σε θηλυκούς επίμυες κατά τη διάρκεια της κύησης, έχει σαν αποτέλεσμα μειωμένη έκφραση του POMC στον τοξοειδή πυρήνα των F1, F2 και F3 αρσενικών, αλλά όχι θηλυκών απογόνων. Αναλυτικότερα, το POMC είναι ένας όρος που αναφέρεται σε νευρώνες που περιέχουν προοπιμελανοκορτίνη και οι οποίοι ελέγχουν τον άξονα του στρες υποθάλαμος-υπόφυση-επινεφρίδια (ΥΥΕ), καθώς και μεταβολικές και διάφορες ανοσολογικές αποκρίσεις. Μειωμένη λειτουργία του, έχει βρεθεί σε ασθενείς με οικογενειακό ιστορικό αλκοολισμού (Gonorko και συν., 2012). Γίνεται λοιπόν κατανοητό από την παραπάνω έρευνα ότι οι διαγενεακές επιδράσεις του αλκοόλ, δύναται να μεταβιβαστούν σε αρκετές γενιές (μέχρι και την F3 γενιά, όπως είδαμε παραπάνω). Αλλαγές σε εγκεφαλικές περιοχές μετά από πατρική κατανάλωση αλκοόλ, αναφέρονται και στην έρευνα των Jameson, Wulser και Kilmer (2004), όπου παρατήρησαν πάχυνση των φλοιικών περιοχών στην F1 γενιά αρσενικών επίμυων, των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει αλκοόλ πριν τοποθετηθούν για ζευγάρι με θηλυκά που δεν είχαν λάβει αλκοόλ.

2.12.2. Νικοτίνη

Η νικοτίνη είναι το δραστικό αλκαλοειδές συστατικό των φύλλων του καπνού και είναι υπεύθυνη για τις ενισχυτικές ιδιότητες που τελικά οδηγούν στον εθισμό στο κάπνισμα (Faure, Tolu, Valverde & Naude, 2014). Οι ψυχοδραστικές ιδιότητες της νικοτίνης, ενεργοποιούνται με τη σύνδεσή της στους νικοτινικούς χολινεργικούς υποδοχείς, οι οποίοι βρίσκονται τόσο στο κεντρικό νευρικό σύστημα, όσο και στο περιφερικό. Η νικοτίνη, η οποία έχει δράση αγωνιστή στους νικοτινικούς χολινεργικούς υποδοχείς, συνδεδεμένη με αυτούς, λειτουργεί ως ρυθμιστής της απελευθέρωσης της ντοπαμίνης από τα ντοπαμινεργικά συστήματα του μέσου εγκεφάλου (Faure και συν., 2014). Αναλυτικότερα οι Dani και De Biasi (2001), αναφέρουν ότι η νικοτίνη αυξάνει την απελευθέρωση της ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα και η αύξηση αυτή είναι υπεύθυνη για τις ενισχυτικές ιδιότητες της

νικοτίνης. Επιπλέον, η χορήγηση ενός ανταγωνιστή της ντοπαμίνης, εμποδίζει τις ενισχυτικές ιδιότητες της νικοτίνης σε ένα πειραματικό πρότυπο αυτοχορήγησης της νικοτίνης.

Αρκετές μελέτες έχουν διεξαχθεί, οι οποίες αναδεικνύουν την γενετική συνιστώσα, η οποία συμβάλλει στον εθισμό στη νικοτίνη. Για παράδειγμα, οι Vink, Willemsen και Boosma (2005), αναφέρουν στην έρευνά τους, ότι η συνεισφορά των γονιδίων κυμαίνεται στο 44% για την έναρξη του καπνίσματος και στο 75% για την εξάρτηση στη νικοτίνη. Δεδομένης της σύνδεσης της νικοτίνης με τα ντοπαμινεργικά συστήματα του εγκεφάλου, φαίνεται πως γενετική ποικιλομορφία στους ντοπαμινεργικούς υποδοχείς 2 και 4 (DRD2 και DRD4), έχουν συσχετιστεί με το κάπνισμα, ενώ παράλληλα γενετική ποικιλομορφία στο γονίδιο του μεταφορέα της ντοπαμίνης, SLC6A3, έχει συσχετιστεί και αυτή με το κάπνισμα (Lerman & Berrettini, 2003). Επιπλέον, σύμφωνα με τους Rav, Mitro, Baldwin, Guo, Patterson, Hetjan και συν. (2010), πολυμορφισμοί στο γονίδιο που κωδικοποιεί την ακετυλοτρανσφεράση της χολίνης, καθώς και στο ένζυμο CYP2A6 που μεταβολίζει τη νικοτίνη, έχουν συσχετιστεί με ευαισθησία στη νικοτίνη, με τη χρήση του καπνού, αλλά έχουν εμπλακεί και στην επιτυχία ή όχι διαφόρων προγραμμάτων διακοπής καπνίσματος. Παρά όμως το γεγονός ότι τα γονίδια δύναται να εξηγήσουν ένα μεγάλο μέρος της κληρονομής των εθιστικών ιδιοτήτων της νικοτίνης, φαίνεται πως και το περιβάλλον παίζει καθοριστικό ρόλο, μέσω των επιγενετικών αλλαγών που προκαλεί και της κληρονομής τους στις μελλοντικές γενιές.

Μια από τις λιγιστές έρευνες, η οποία επικεντρώνεται στη μελέτη των διαγενεακών επιδράσεων της νικοτίνης, πραγματοποιήθηκε από τους Zhu, Lee, Spencer, Biederman και Bhide (2014), οι οποίοι χρησιμοποίησαν ένα μοντέλο προγεννητικής έκθεσης στη νικοτίνη, προκειμένου να προκαλέσουν σε ποντίκια διαταραχή ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ). Ειδικότερα οι Zhu και συν. (2014), αναφέρουν ότι F1θηλυκά και αρσενικά ποντίκια, των οποίων οι F0 μητέρες είχαν εκτεθεί στη νικοτίνη κατά τη διάρκεια της κύησης, παρουσίασαν υπερδραστηριότητα και μειωμένη προσοχή και αυτά τα χαρακτηριστικά κληροδοτήθηκαν στην F2 και στην F3 γενιά μέσω των θηλυκών και όχι των αρσενικών ποντικίων. Επιπροσθέτως σύμφωνα με τους Zhu και συν. (2014), η υπερδραστηριότητα που παρατηρήθηκε στην F2 γενιά, μειώθηκε με τη χορήγηση μεθυλφαινιδάτης, η οποία αύξησε την διαθεσιμότητα της ντοπαμίνης, γεγονός που έκανε τους ερευνητές να θεωρήσουν ότι η υπερδραστηριότητα προκλήθηκε από την μείωση της ντοπαμίνης εξαιτίας της χρήσης της νικοτίνης από την F0 και την F1 γενιά. Οι εθιστικές ιδιότητες της νικοτίνης λοιπόν, όπως γίνεται κατανοητό από τα παραπάνω, μπορούν να μεταβιβαστούν ανά τις γενιές και πολυγενεακά και διαγενεακά.

Η νικοτίνη μπορεί να προκαλέσει επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες μπορούν να κληρονομηθούν από τις επόμενες γενιές. Η έκθεση στη νικοτίνη για παράδειγμα, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA του γονιδίου που κωδικοποιεί την μονοαμινοξειδάση Α (MAO A), ενός ενζύμου που μεταβολίζει τις μονοαμίνες. Έτσι μειωμένη μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της MAO A

έχει παρατηρηθεί στο αίμα καπνιστών (Phillibert, Beach, Gunter, Brody, Madan και Gerrard, 2010). Αυτό αποτελεί ένα πολύ σημαντικό εύρημα, καθώς σύμφωνα με τους Zhu και συν. (2014), η υπομεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της MAO A από την νικοτίνη, μπορεί να εξηγήσει την μειωμένη ντοπαμίνη, η οποία όπως προαναφέραμε προκαλεί υπερδραστηριότητα και μειωμένη προσοχή, η οποία μπορεί να μεταβιβαστεί μέχρι την F3 γενιά των πειραματόζωων. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Toledo, Rodriguez, Lotfipour, Leonard, Perron, Richer, Veillette και συν. (2010), η έκθεση F0 μητέρων σε νικοτίνη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης τους, έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη μεθυλίωση του DNA του BDNF στο αίμα των F1 απογόνων. Σύμφωνα με τους Yohn, Bartolomei και Blendy (2015), αλλαγές της δραστηριότητας του BDNF, έχει συσχετιστεί με την αυτοχορήγηση ποικίλων εθιστικών ουσιών. Πέρα όμως από τις διάφορες αλλαγές που προκαλεί στη μεθυλίωση του DNA, η νικοτίνη μπορεί να αναδιαμορφώσει τη δομή της χρωματίνης, μέσα από μεταβολές στις ιστόνες. Για παράδειγμα, οι Levine, Huang, Drisaldi, Griffin, Pollak, Xu και συν. (2011), παρατήρησαν ότι η χορήγηση νικοτίνης σε ποντίκια είχε ως αποτέλεσμα μια αύξηση στην ακετυλίωση της ιστόνης H3 στο ραβδωτό σώμα.

2.12.3. Κοκαΐνη

Η κοκαΐνη είναι ένα ισχυρό ψυχοδιεγερτικό. Ο μηχανισμός δράσης της στο κεντρικό νευρικό σύστημα, είναι η αύξηση των εξωκυττάρων επιπέδων της ντοπαμίνης, μέσω της αναστολής της επαναπρόσληψής της από τις προσυναπτικές απολήξεις (Wise, 1996). Αυτή η αύξηση των εξωκυττάρων επιπέδων της ντοπαμίνης σε περιοχές που ανήκουν στο κύκλωμα ανταμοιβής, όπως στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και στον επικλινή πυρήνα, είναι υπεύθυνη για τις ενισχυτικές ιδιότητες της κοκαΐνης, που τελικά οδηγούν στον εθισμό σε αυτή (Wise, 1996). Η κοκαΐνη είναι ξεκάθαρα μια ουσία με εθιστική δράση, καθώς έχει βρεθεί ότι αυτοχορηγείται από τα πειραματόζωα είτε ενδοφλεβίως είτε ενδοεγκεφαλικά στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και στον επικλινή πυρήνα και αυτή η δράση της αναστέλλεται είτε από φαρμακολογικό αποκλεισμό των ντοπαμινεργικών υποδοχέων είτε από επιλεκτική καταστροφή των ντοπαμινεργικών απολήξεων (Bressan & Cirrpa, 2005). Η χρήση της κοκαΐνης επηρεάζεται από γενετικούς παράγοντες (Li, Zhou, Zhang, Tohnson, Wei & Uhl, 2011). Μάλιστα έχει αποδειχθεί πως τα γονίδια αφορούν το 50% της κληρονομικότητας του εθισμού στην κοκαΐνη. Δεδομένων των παραπάνω είναι πιθανό πως το υπολειπόμενο ποσοστό συμπληρώνεται από άλλους παράγοντες, όπως για παράδειγμα η διαγενεακή κληρονομία των επιγενετικών αλλαγών που προκαλούνται από την κοκαΐνη.

Αρκετές μελέτες αναδεικνύουν τις διαγενεακές επιδράσεις της κοκαΐνης σε συμπεριφορικό επίπεδο. Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Vassoler, White, Schmidt, Sadri-Vakili και Pierce (2013b), έμαθαν σε αρσενικούς επίμυες να αυτοχορηγούν κοκαΐνη και εν συνεχεία τους τοποθέτησαν να ζευγαρώσουν με ελεύθερους από την κοκαΐνη, θηλυκούς επίμυες. Εν συνεχεία παρατήρησαν ότι οι F1

αρσενικοί απόγονοι παρουσίασαν καθυστερημένη εκμάθηση και μειωμένη διατήρηση της συμπεριφοράς αυτοχορήγησης κοκαΐνης, ενώ τα παραπάνω δεν παρατηρήθηκαν στους F1 θηλυκούς απογόνους. Σε νευροχημικό επίπεδο, οι Vassoler και συν. (2013b), αναφέρουν αύξηση του mRNA και της πρωτεΐνης του Bdnf στον έσω προμετωπιαίο φλοιό. Μάλιστα, η χορήγηση του ανταγωνιστή ANA-12 για τον υποδοχέα Trkb του Bdnf, αντέστρεψε την μειωμένη-προβληματική αυτοχορήγηση της κοκαΐνης που παρατηρήθηκε στους F1 αρσενικούς απογόνους. Επίσης, μέσα από την παραπάνω έρευνα φάνηκε ότι υπήρχε αυξημένη συσχέτιση μεταξύ της ακετυλιωμένης ιστόνης H3 και στον υποκινητή γονιδίου του Bdnf στους F1 αρσενικούς επίμυες. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Abel, Moore, Waselewsky, Zajac και Russell (1989), όπου στην έρευνά τους αναφέρουν ότι οι αρσενικοί F1 απόγονοι, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε κοκαΐνη, παρουσίασαν κατά την ενηλικίωσή τους υπερδραστηριότητα. Γίνεται, λοιπόν, κατανοητό από τα παραπάνω ότι η αυτοχορήγηση κοκαΐνης, δύναται να επηρεάσει την έκφραση γονιδίων και την ευαισθησία στην κοκαΐνη των αρσενικών απογόνων.

Από την άλλη πλευρά οι Sasaki, Constantino και Pan (2014), ακολούθησαν διαφορετική προσέγγιση στη μελέτη των διαγενεαλογικών επιδράσεων της κοκαΐνης. Πιο συγκεκριμένα χορήγησαν ενδοφλεβίως κοκαΐνη σε θηλυκούς Spargue Dawley επίμυες για 10 ημέρες και ύστερα τους επέτρεψαν να ζευγαρώσουν με ελεύθερους από κοκαΐνη αρσενικούς επίμυες. Εν συνεχεία, οι Sasaki και συν. (2014) παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί απόγονοι παρουσίασαν αυξημένη ψυχοκινητική ευαισθητοποίηση στην κοκαΐνη, καθώς επίσης και αυξημένη έκφραση του γονιδίου του ντοπαμινεργικού υποδοχέα D1 (DRD1) στον έσω προμετωπιαίο φλοιό. Παρ' όλα αυτά οι Sasaki και συν. (2014), δεν παρατήρησαν αλλαγές στα επίπεδα της κορτικοστερόνης και στην έκφραση των γονιδίων της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης, αλλά και στην έκφραση των υποδοχέων των γλυκορτικοειδών. Γίνεται, λοιπόν, κατανοητό από τα παραπάνω ότι η αυξημένη ευαισθησία στην κοκαΐνη οφείλεται στις αλλαγές της ντοπαμινεργικής λειτουργίας εξαιτίας αλλαγών στην έκφραση του γονιδίου DRD1.

Πληροφορίες για τις επιδράσεις της χρήσης κοκαΐνης στις επόμενες γενιές, λαμβάνουμε και από την έρευνα των Killinger, Robinshon και Stanwood (2012), οι οποίοι ακολούθησαν το πειραματικό πρότυπο της πατρικής έκθεσης στην κοκαΐνη. Αναλυτικότερα έθεσαν αρσενικά ποντίκια σε κοκαΐνη ενδοφλεβίως για 10 εβδομάδες και στη συνέχεια τα τοποθέτησαν να ζευγαρώσουν με ελεύθερα από την κοκαΐνη θηλυκά ποντίκια. Οι Killinger και συν. (2012), παρατήρησαν ότι οι F1 απόγονοι, τόσο οι αρσενικοί όσο και οι θηλυκοί παρουσίασαν μια μικρή αλλά σημαντική αύξηση στην ακινησία-αβοηθησία στη δοκιμασία αιώρησης από την ουρά, μιας δοκιμασίας που αξιολογεί την ύπαρξη ή όχι καταθλιπτικών συμπτωμάτων στα πειραματόζωα. Επίσης το βάρος στην F1 γενιά, των πατέρων που είχαν εκτεθεί σε κοκαΐνη, ήταν σημαντικά μειωμένο σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Από την άλλη πλευρά σύμφωνα με τους Killinger και συν. (2012), άλλες πτυχές της συμπεριφορικής δραστηριότητας, όπως η κινητική δραστηριότητα (σε αντίθεση με τους Sasaki και συν., 2014), το

άγχος, η μάθηση και η μνήμη δεν επηρεάστηκαν από το πατρικό ιστορικό της χρήσης κοκαΐνης. Από τα παραπάνω δεδομένα, φαίνεται ότι η έκθεση των γονέων στην κοκαΐνη και πιο συγκεκριμένα των πατέρων, μπορεί να προκαλέσει αλλαγές σε κυκλώματα και περιοχές του εγκεφάλου που ελέγχουν το συναίσθημα και τη διάθεση, οδηγώντας τελικά στην εμφάνιση καταθλιπτικών συμπτωμάτων στην F1 γενιά.

Σε αντίθεση με τους Killinger και συν. (2012), οι He, Lidow και Lidow (2006), ελέγχοντας τους F1 απογόνους, πατέρων που είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους σε εισπνεόμενη κοκαΐνη, παρατήρησαν αρκετά ελλείμματα στη μάθηση και τη μνήμη. Ειδικότερα, οι He και συν. (2006), εκτίμησαν την οπτικοχωρική προσοχή και τη χωρική μνήμη εργασίας στους F1 απογόνους, χρησιμοποιώντας ένα λαβύρινθο με πέντε βραχίονες. Στις δοκιμασίες εκτίμησης της προσοχής και της μνήμης εργασίας, οι αρσενικοί απόγονοι, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί σε κοκαΐνη, είχαν χαμηλότερη επίδοση από τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου και οι θηλυκοί απόγονοι είχαν ακόμη χαμηλότερη επίδοση από τους αρσενικούς. Επιπλέον, σύμφωνα με τους He και συν. (2006), οι νεογέννητοι απόγονοι, των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει κοκαΐνη, είχαν μια αμφιβρεγματική μικρότερη διάμετρο κεφαλιού σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η παραπάνω έρευνα αποτελεί μια ισχυρή απόδειξη για τις διαφυλικές διαφορές που παρατηρούνται στις διαγενεακές επιδράσεις διαφόρων φαρμάκων και ειδικότερα της κοκαΐνης.

2.12.4. Οπιοειδή

Τα οπιοειδή, όπως η μορφίνη, είναι ισχυρά αναλγητικά που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του χρόνιου και σοβαρού πόνου. Η μορφίνη προέρχεται από το φυτό μήκων η υπνοφόρος, από όπου προέρχεται και η κωδεΐνη, τα δύο γνωστότερα φυσικά οπιούχα (Μαρσέλος, 2004). Πέρα όμως από την αναλγητική δράση που έχει η μορφίνη, μια άλλη βασική φαρμακολογική της δράση, είναι η έντονη ευφορία που προκαλεί στο χρήστη. Μάλιστα, είχε διατυπωθεί η άποψη ότι η αναλγητική δράση της μορφίνης είναι αποτέλεσμα της ευφορίας που προκαλεί, δηλαδή το άτομο συνεχίζει να αισθάνεται πόνο, αλλά αδιαφορεί εξαιτίας της ευφορικής δράσης της μορφίνης, μια άποψη όμως που πλέον έχει καταρριφθεί (Μαρσέλος, 2004). Τα οπιοειδή, όπως η μορφίνη, ασκούν τις ευφορικές τους δράσεις σε τρία είδη υποδοχέων, τους μ, τους κ και τους δ, όπου ασκούν και την δράση τους τα ενδογενή οπιοειδή, όπως οι δυνορφίνες, οι β-ενδορφίνες και οι εγκεφαλίνες (Παπαδάτος, 2010). Τα οπιοειδή είναι εξαιρετικά εθιστικές ουσίες, καθώς η ευφορία που προκαλούν, οδηγεί το χρήστη στην επανάληψη της χρήσης ουσίας και τελικά στον εθισμό σε αυτή. Η επανειλημμένη χρήση τους οδηγεί στην ανάπτυξη αντοχής, η οποία τελικά οδηγεί στην ταχύτερη σωματική και ψυχολογική εξάρτηση από την ουσία (Μαρσέλος, 2004).

Οι Ho, Goldman, Heinz, Kaprio, Kreek, Li, Munafo και Tyndale (2010), αναφέρουν ότι τα γονίδια είναι υπεύθυνα για το 43-60% της χρήσης των οπιοειδών. Το υπόλοιπο ποσοστό μπορεί να

εξηγηθεί από τη δράση των επιγενετικών αλλαγών και της διαγενεακής ή πολυγενεακής κληρονομιάς τους από τις επόμενες γενιές.

Ο Byrnes (2005), στην έρευνά του αναφέρει ορισμένες από τις διαγενεακές επιδράσεις που έχει η χρήση της μορφίνης από θηλυκούς επίμυες κατά την διάρκεια μιας ευαίσθητης-κρίσιμης περιόδου, όπως αυτή της εφηβείας. Αναλυτικότερα θηλυκοί επίμυες ηλικίας 30 ημερών, έλαβαν μορφίνη για 10 ημέρες και ύστερα τοποθετήθηκαν για ζευγάρισμα με αρσενικά, τα οποία δεν είχαν λάβει μορφίνη (Byrnes, 2005). Η μητρική έκθεση στη μορφίνη είχε ποικίλες επιδράσεις στους F1 απογόνους. Τα θηλυκά της F1 γενιάς, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε μορφίνη κατά την εφηβεία τους, έμειναν λιγότερο χρόνο στους ανοιχτούς βραχίονες του ανυψωμένου λαβυρίνθου και παρουσίασαν μειωμένη εξερευνητικότητα ενός καινούργιου περιβάλλοντος (Byrnes, 2005). Επίσης, στα θηλυκά της F1 γενιάς, παρατηρήθηκε πιο γρήγορη ευαισθητοποίηση στη μορφίνη σε σχέση με όλα τα υπόλοιπα πειραματόζωα (συμπεριλαμβανομένων και αυτών της ομάδας ελέγχου), όπως φάνηκε από τον έλεγχο της κινητικής τους δραστηριότητας (Byrnes, 2005). Παρόμοια μεθοδολογία ακολούθησαν στην έρευνά τους και οι Byrnes, Johnson, Carini και Byrnes (2013), οι οποίοι χορήγησαν σε θηλυκούς επίμυες μορφίνη και μετά από τρεις εβδομάδες τα τοποθέτησαν για αναπαραγωγή με ελεύθερα από τη μορφίνη αρσενικά. Το διάστημα των τριών εβδομάδων ορίστηκε προκειμένου να εξαιληθεί οποιαδήποτε πιθανότητα μετάδοσης των ιδιοτήτων της μορφίνης απευθείας στο έμβρυο. Κατ' αυτό τον τρόπο οι Byrnes και συν. (2013) παρατήρησαν ότι τόσο οι F1 απόγονοι, όσο και οι F2 απόγονοι των θηλυκών που είχαν εκτεθεί στη μορφίνη στην εφηβεία τους, εμφάνισαν περιορισμένη ευαισθητοποίηση της κινητικής τους δραστηριότητας μετά από επανειλημμένη χορήγηση κουινπιρόλης, ενός αγωνιστή των ντοπαμινεργικών D2 και D3 υποδοχέων. Παράλληλα πέρα από τις συμπεριφορικές επιδράσεις της μορφίνης στην F1 και F2 γενιά των πειραματοζώων, οι Byrnes και συν. (2013), αναφέρουν και μια αύξηση της επαγόμενης από την κουινπιρόλη απελευθέρωση κορτικοστερόνης και μια ρύθμιση προς τα πάνω της έκφρασης των γονιδίων του κ υποδοχέα των οπιοειδών και του D2 ντοπαμινεργικού υποδοχέα στον επικλινή πυρήνα. Σύμφωνα με τους Byrnes και συν. (2013), ο D2 υποδοχέας της ντοπαμίνης, παίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση διαφόρων ψυχοπαθολογιών. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, γίνεται κατανοητό πως η χρήση της μορφίνης κατά την εφηβεία από θηλυκούς επίμυες, μπορεί να προκαλέσει διαγενεακές επιδράσεις, με κυριότερες την ευαλωτότητα των επόμενων γενεών σε διάφορες ψυχικές ασθένειες, που μπορεί να επιμένουν μέχρι και δύο γενιές (F1 και F2 γενιά).

Σε μια πρόσφατη έρευνα, οι Byrnes, Babb, Scanlan και Byrnes (2011), μελέτησαν τις διαγενεακές επιδράσεις της μορφίνης στο άγχος και στην αναλγησία. Ειδικότερα οι Byrnes και συν. (2011), αφού εξέθεσαν θηλυκούς επίμυες σε μορφίνη, μετά από ένα διάστημα τους επέτρεψαν να ζευγαρώσουν με ελεύθερα από τη μορφίνη αρσενικά. Εν συνεχεία, αναφέρεται ότι οι F1 θηλυκοί απόγονοι, παρουσίασαν αλλαγές στην αγχώδη συμπεριφορά, όπως αυτή εκτιμήθηκε από τη δοκιμασία του ανοιχτού πεδίου και αυτές οι αλλαγές είχαν αναλογική σχέση με τα στάδια του

οιστρικού κύκλου (Byrnes και συν., 2011). Επίσης, μέσα από τη δοκιμασία της θερμής πλάκας, η οποία χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της αναλγησίας στα πειραματόζωα, εντοπίστηκαν διαφυλικές διαφορές στον ουδό του πόνου των πειραματόζωων. Ενδιαφέρον παρουσίαζε το εύρημα ότι τα αρσενικά της F1 γενιάς, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στη μορφίνη, όταν συγκρίθηκαν με τα αρσενικά της ομάδας ελέγχου, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στο έκδοχο της μορφίνης, παρουσίασαν σημαντικά αυξημένη ευαισθησία στις αναλγητικές επιδράσεις της οξείας χορήγησης της μορφίνης και ανέπτυξαν πιο γρήγορα αντοχή στις αναλγητικές επιδράσεις της χρόνιας χρήσης μορφίνης (Byrnes και συν., 2011). Η παραπάνω έρευνα προσθέτει επιπλέον ευρήματα για τις διαγενεακές επιδράσεις της μορφίνης στο άγχος και στην αντίληψη του πόνου, τονίζοντας μάλιστα πως αυτές οι επιδράσεις εξαρτώνται άμεσα από το φύλο των υποκειμένων.

Διάφορες διαγενεακές επιπτώσεις της μορφίνης εξέτασαν στην έρευνά τους οι Vassoler, Johnson-Collins, Carini και Byrnes (2014), οι οποίοι μελέτησαν αλλαγές στην έκφραση του γονιδίου της προοιομελανοκορτινής στον τοξοειδή πυρήνα, καθώς επίσης και στην έκφραση των γονιδίων της υδροξυλάσης της τυροσίνης και του μ υποδοχέα των οπιοειδών στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε μορφίνη κατά τη διάρκεια της εφηβείας τους. Αναλυτικότερα, οι Vassoler και συν. (2014), εξέθεσαν τους F1 απογόνους σε μία οξεία δόση μορφίνης και παρατήρησαν αυξημένη νάρκωση επαγόμενη από τη μορφίνη, μαζί με μια μείωση της επαγόμενης από τη μορφίνη απελευθέρωσης κορτικοστερόνης. Επιπλέον, στους F1 αρσενικούς απογόνους παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων της προοιομελανοκορτινής στον τοξοειδή πυρήνα και του μ υποδοχέα των οπιοειδών σε σχέση με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου (Vassoler και συν., 2014). Μελετώντας τα παραπάνω ευρήματα, γίνεται κατανοητό ότι η χρήση της μορφίνης από θηλυκούς επίμυες κατά την εφηβεία, δύναται να προκαλέσει διαγενεακές δράσεις, οι οποίες σχετίζονται με δυσλειτουργία του άξονα ΥΥΕ και οι οποίες παρουσιάζουν σεξουαλικό διμορφισμό με το να εμφανίζονται κυρίως στους αρσενικούς και όχι στους θηλυκούς απογόνους.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει και η έρευνα των Johnson, Carini, Schenu, Stewart και Byrnes (2011), οι οποίοι μελέτησαν τη συμπεριφορά παιχνιδιού σε F1 πειραματόζωα, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει μορφίνη και παρατήρησαν μειωμένη συμπεριφορά παιχνιδιού, χωρίς όμως να παρατηρούνται αλλαγές σε άλλες κοινωνικές συμπεριφορές όπως η περιποίηση και η εξερεύνηση. Επιπροσθέτως, σημαντικό είναι το γεγονός ότι από τη χρήση της μορφίνης επηρεάστηκαν και οι μητέρες, καθώς αυτές που έλαβαν μορφίνη κατά την εφηβεία τους, περιποιήθηκαν τα νεογνά τους σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τα θηλυκά της ομάδας ελέγχου (Johnson και συν., 2011).

Πληροφορίες για τις διαγενεακές επιδράσεις της μορφίνης, λαμβάνουμε και από νευροχημικές και νευροανατομικές έρευνες. Οι Cicero, Adams, Giordano, Miller, O'Connor και Nock (1991), σε μια τέτοια μελέτη αφού ζευγάρωσαν αρσενικά, τα οποία είχαν εκθέσει σε μορφίνη με θηλυκά που δεν

είχαν λάβει μορφίνη, παρατήρησαν ότι οι F1 απόγονοί τους είχαν μικρότερο μέγεθος κατά τη γέννησή τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ακόμη όταν οι F1 επίμυες ενηλικιώθηκαν, παρατηρήθηκαν αρκετές αλλαγές σε ενδοκρινικό επίπεδο, συγκρινόμενοι με τους επίμυες της ομάδας ελέγχου. Μέσα σε αυτές τις αλλαγές η κυριότερη ήταν ότι οι F1 επίμυες, που οι πατέρες τους είχαν λάβει μορφίνη, παρουσίασαν χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης στο σπέρμα τους, καθώς και μετρίως ανεβασμένα επίπεδα β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο (Cicero και συν., 1991). Όσον αφορά τους θηλυκούς απογόνους της F1 γενιάς, δεν παρατηρήθηκαν ενδοκρινικές αλλαγές στο αναπαραγωγικό σύστημα, παρατηρήθηκαν όμως μεγάλες αυξήσεις στα επίπεδα της κορτικοστερόνης, καθώς και παρόμοια αύξηση με αυτή των αρσενικών, των επιπέδων της β-ενδορφίνης στον υποθάλαμο (Cicero και συν., 1991).

Οι επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες άλλωστε είναι υπεύθυνες για τη διαγενεακή διαβίβαση των χαρακτηριστικών των οπιοειδών, έχουν παρατηρηθεί σε αρκετές μελέτες σε ζώα μετά την χορήγηση μορφίνης. Για παράδειγμα, αλλαγές στις ιστόνες έχουν παρατηρηθεί στον επικλινή πυρήνα και σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου μετά από έκθεση των πειραματοζώων σε μορφίνη (Maze & Nestler, 2011). Επίσης πέρα από τις διάφορες μεταβολές στις ιστόνες, έχουν παρατηρηθεί και αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA στον υποκινητή του γονιδίου OPRM1 (υποδοχέας των οπιοειδών) στο αίμα και στο σπέρμα ατόμων εθισμένων στα οπιοειδή (Chorbov, Todorov, Lynskey & Cicero, 2011).

2.12.5. Κάνναβη

Η χρήση και ο εθισμός στην κάνναβη έχουν τόσο μια περιβαλλοντική όσο και μια γενετική συνιστώσα. Οι Verweij, Zietsch, Lynskey, Medland, Neale, Martin και συν. (2010), στην μεταανάλυσή τους αναφέρουν ότι η κληρονομικότητα της χρήσης της κάνναβης κυμαίνεται στο 40-48% και η κληρονομικότητα της χρόνιας χρήσης της στο 51-59%. Σύμφωνα με τους Demers, Bogdan και Agrawal (2014), πολυμορφισμοί του γονιδίου που κωδικεύει τον υποδοχέα 1 των κανναβινοειδών (CNR1), έχουν συσχετιστεί με έντονη επιθυμία για τη λήψη κάνναβης κατά τη διάρκεια του συνδρόμου στέρησης από κάνναβη. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι πολυμορφισμοί στο γονίδιο CYP2C9 του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για το μεταβολισμό της Δ^9 -THC, έχουν ως αποτέλεσμα μεγαλύτερη ευαισθησία στις κατασταλτικές δράσεις της Δ^9 -THC (Sachse, Seeboth, Pfeil, Serht, Meineke, Tzetkov, Bruns και συν., 2008). Τα τελευταία όμως χρόνια έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες, οι οποίες μελετούν την διαγενεακή επιγενετική κληρονομικότητα, των ιδιοτήτων της Δ^9 -THC.

Το σύστημα των ενδογενών κανναβινοειδών του εγκεφάλου αλληλεπιδρά με διάφορες άλλες χημικές και εθιστικές ουσίες. Μάλιστα αυτή η αλληλεπίδραση είναι ιδιαίτερα εμφανής με το σύστημα των οπιοειδών, καθώς ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι η επανειλημμένη χορήγηση Δ^9 -THC σε πειραματόζωα, προκαλεί συμπεριφορική ευαισθητοποίηση και διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση με την μορφίνη (Cadoni, Pisank, Solinas, Acquas & Di Chiara, 2001). Επίσης, η Δ^9 -THC παρουσιάζει

διασταυρούμενη ευαισθητοποίηση και με την ηρωίνη (Pontieri, Monnazzi, Scontrini, Buttarelli & Patachioli, 2001a). Ακόμη, σύμφωνα με τους Pontieri, Monnazzi, Scontrini, Buttarelli και Patachioli (2001b), έχει παρατηρηθεί και το αντίστροφο φαινόμενο, όπου προκαλείται συμπεριφορική ευαισθητοποίηση των πειραματόζωων στο WIN55212.2, έναν αγωνιστή των υποδοχέων των κανναβινοειδών, μετά από προχορήγηση ηρωίνης. Κατ' αυτόν τον τρόπο οι περισσότερες μελέτες που ερευνούν το φαινόμενο της διαγενεακής επιγενετικής κληρονόμησης των χαρακτηριστικών της Δ^9 -THC, μελετούν την απόκριση των μελλοντικών γενεών στα οπιοειδή, όπως η μορφίνη και η ηρωίνη.

Οι Vassoler, Johnson και Byrnes (2013), εξέτασαν στην έρευνά τους τις διαγενεακές επιδράσεις της χρήσης ενός αγωνιστή της Δ^9 -THC σε έφηβους θηλυκούς επίμυες. Ειδικότερα αναφέρεται ότι χορηγήθηκε στα θηλυκά υποδορίως ο αγωνιστής WIN-55,212 των CB1 και CB2 των κανναβινοειδών για τρεις ημέρες. Τη μεταγεννητική ημέρα 60, όταν πια τα θηλυκά ενηλικιώθηκαν, τοποθετήθηκαν για ζευγάρι με ελεύθερα από το φάρμακο αρσενικά. Σύμφωνα με τους Vassoler και συν. (2013), οι F1 θηλυκοί απόγονοι, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στο WIN-55,212, παρουσίασαν μια σημαντικά αυξημένη απόκριση στη μορφίνη, παρουσίασαν δηλαδή αυξημένη ευαισθητοποίηση στη μορφίνη σε σύγκριση με τα πειραματόζωα της ομάδας ελέγχου. Μαζί με την αυξημένη ευαισθητοποίηση στη μορφίνη, παρατηρήθηκαν και αυξημένη έκφραση του υποδοχέα μ των οπιοειδών στον επικλινή πυρήνα, των πειραματόζωων των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στον αγωνιστή της Δ^9 -THC (Vassoler και συν., 2013). Τέλος στην παρούσα έρευνα ελέγχθηκαν και τα επίπεδα του mRNA της εκλυτικής ορμόνης της κορτικοτροπίνης (CRH) στον παρακοιλιακό πυρήνα του υποκάμπτου, χωρίς όμως να υπάρχει κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα (Vassoler και συν., 2013). Παρόμοια αποτελέσματα είχαν και οι Byrnes, Johnson, Schenk και Byrnes (2012), οι οποίοι παρατήρησαν ότι οι F1 αρσενικοί απόγονοι, θηλυκών που είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους στον αγωνιστή των κανναβινοειδών WIN 55,212-2, παρουσίασαν τόσο κατά την εφηβεία τους όσο και κατά την ενηλικίωσή τους μεγαλύτερη ευαισθησία στη μορφίνη σε σχέση με επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στο έκδοχο της μορφίνης, όπως φάνηκε από τη δοκιμασία της εξαρτημένης προτίμησης θέσης.

Οι Szutorisz, Di Nieri, Sweet, Egervani, Michaelide, Carter και συν. (2014), προκειμένου να μελετήσουν τις επιδράσεις που έχει η χρήση της κάνναβης από τους γονείς στον φαινότυπο των απογόνων τους, χορήγησαν και σε θηλυκούς και σε αρσενικούς επίμυες Δ^9 -THC και ύστερα τους επέτρεψαν να ζευγαρώσουν μαζί. Σύμφωνα με τους Szutorisz και συν. (2014), οι F1, αρσενικοί επίμυες των οποίων οι γονείς είχαν λάβει Δ^9 -THC, παρουσίασαν αυξημένη προσπάθεια για την εκμάθηση της διαδικασίας αυτοχορήγησης της ηρωίνης, αυξημένη αυτοχορήγηση ηρωίνης και αυξημένες στερεοτυπικές συμπεριφορές κατά το σύνδρομο στέρησης από ηρωίνη, σε σχέση με τα πειραματόζωα, των οποίων οι γονείς είχαν λάβει έκδοχο. Σε μοριακό επίπεδο τώρα, η γονική έκθεση στην Δ^9 -THC συσχετίστηκε με αλλαγές στην έκφραση του mRNA των υποδοχέων των κανναβινοειδών, των ντοπαμινεργικών και των γλουταμινεργικών υποδοχέων στο ραβδωτό, μια

περιοχή που συμβάλλει στη ρύθμιση των παρορμητικών συμπεριφορών και της ευαισθησίας στον εθισμό (Szutorisz και συν., 2014). Ειδικότερα στους F1 απογόνους, των οποίων οι γονείς είχαν λάβει Δ^9 -THC, παρουσιάστηκαν μειωμένα επίπεδα του mRNA και της συνδεσιμότητας του NMDA υποδοχέα στο ραχιαίο ραβδωτό, ενώ παρατηρήθηκαν και αλλαγές στην πλαστικότητα των διεγερτικών συνάψεων στο ραβδωτό, που παίζει όπως είδαμε σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των επί σκοπώ συμπεριφορών (Szutorisz και συν., 2014). Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι η χρήση της THC κατά την εφηβεία, μπορεί να επηρεάσει τον φαινότυπο των απογόνων, καθώς και να αυξήσει σημαντικά τον κίνδυνο για την εμφάνιση διαφόρων ψυχιατρικών διαταραχών.

3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να μελετάται ένα φαινόμενο κληρονομικής μεταβίβασης των χαρακτηριστικών και των ιδιοτήτων των εθιστικών ουσιών μέσα από ένα μοντέλο, το οποίο διαφέρει σημαντικά από το κλασικό μοντέλο της κληρονομικής των χαρακτηριστικών. Στην μελέτη αυτού του φαινομένου συνέβαλαν και αρκετές έρευνες σχετικά με την επιγενετική κληρονομική των χαρακτηριστικών. Η επιγενετική αναφέρεται σε αλλαγές που προκαλούνται από διάφορα περιβαλλοντικά ερεθίσματα, όπως η κατάχρηση των εθιστικών ουσιών. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να κληρονομηθούν στις επόμενες γενεές, μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται διαγενεακή επιγενετική κληρονομική. Μάλιστα, το μοντέλο της διαγενεακής επιγενετικής κληρονομικής των χαρακτηριστικών διαφέρει από το κλασικό γενετικό μοντέλο και η διαφορά αυτή συνίσταται στο γεγονός ότι στη διαγενεακή επιγενετική κληρονομική δεν παρατηρούνται αλλαγές στο γονιδίωμα, αλλά χημικές αλλαγές, οι οποίες είναι σε θέση να επηρεάζουν την έκφραση ή την καταστολή διαφόρων γονιδίων επηρεάζοντας κατ'επέκταση τον φαινότυπο των μελλοντικών γενεών.

Σκοπός της παρούσας ερευνητικής εργασίας είναι η μελέτη των διαγενεακών επιδράσεων της Δ^9 -THC σε επίμυες. Για το σκοπό αυτό, θηλυκοί Spargue-Dawley επίμυες, δέχθηκαν χρόνιες χορηγήσεις Δ^9 -THC κατά τη διάρκεια της εφηβείας τους. Εν συνεχεία, ζευγάρωσαν με ελεύθερα από την Δ^9 -THC αρσενικά και ελέγχθηκαν οι αρσενικοί απόγονοι πρώτης γενιάς αυτών των θηλυκών (F1 απόγονοι), για τις αντιδράσεις που θα επιδείκνυαν στη χορήγηση δύο ουσιών, της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης. Προκειμένου να μελετηθούν οι αντιδράσεις των F1 πειραματόζωων στη χορήγηση της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης χρησιμοποιήθηκαν δύο συμπεριφορικές δοκιμασίες, οι οποίες εξετάζουν δύο πτυχές της συμπεριφοράς των πειραματόζωων, οι οποίες επηρεάζονται από τη λήψη εθιστικών ουσιών: η κινητικότητα και η ενίσχυση-ανταμοιβή. Κατά αυτόν τον τρόπο, οι F1 επίμυες εξετάστηκαν για να διαπιστωθούν οι επιδράσεις στην κινητικότητα στο ανοιχτό πεδίο μετά από τη χορήγηση Δ^9 -THC και αμφεταμίνης. Διαφορετικές ομάδες επίμυων ελέγχθηκαν, επίσης, για την αντίδρασή τους στην ενίσχυση-ανταμοιβή, μετά από τη χορήγηση Δ^9 -THC και αμφεταμίνης, χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Πειραματόζωα και συνθήκες διαβίωσης

Τα πειραματόζωα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα ήταν θηλυκοί επίμυες Sprague- Dawley, οι οποίοι γεννήθηκαν στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Νευροεπιστημών και Συμπεριφοράς στο Πανεπιστήμιο Κρήτης. Όλα τα θηλυκά πειραματόζωα στεγάζονταν ανά δύο σε πλαστικούς κλωβούς και η θερμοκρασία στο ζωοτροφείο, αλλά και κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, ήταν σταθερή στους 22-23°C. Υπήρχε επίσης και ένας 12ωρος κύκλος εναλλαγής φωτός και σκότους, κατά τον οποίο τα φώτα άναβαν στις 08:00 το πρωί και έσβηναν στις 20:00 το βράδυ και όλες οι πειραματικές διαδικασίες πραγματοποιήθηκαν κατά την φωτεινή περίοδο. Τέλος η τροφή και το νερό ήταν διαθέσιμα ελεύθερα κατά βούληση.

4.2. Φάρμακα και χορηγήσεις

Η Δ⁹-THC διαλύθηκε σε έκδοχο, το οποίο αποτελούταν από 5% DMSO (dimethylsulfoxide), 5% cremofor, και 90% φυσιολογικό ορό (διάλυμα χλωριούχου νατρίου 0.9%) και χορηγήθηκε σε όγκο 3 ml/kg σωματικού βάρους. Η υδροχλωρική αμφεταμίνη διαλύθηκε σε φυσιολογικό ορό 0.9% και χορηγήθηκε σε όγκο 1ml/kg σωματικού βάρους. Όλες οι χορηγήσεις τόσο αυτές της Δ⁹-THC όσο και αυτές της αμφεταμίνης, πραγματοποιήθηκαν ενδοπεριτοναϊκά (i.p). Για τις χορηγήσεις στα θηλυκά επιλέχθηκαν οι δόσεις 0.1 και 1 mg/kg της Δ⁹-THC και το έκδοχο της Δ⁹-THC (VEH). Για τις χορηγήσεις στα F1 αρσενικά επιλέχθηκαν οι δόσεις 0.1, 0.5 και 1 mg/kg της Δ⁹-THC και το έκδοχο της Δ⁹-THC, και παρομοίως στην αμφεταμίνη επιλέχθηκαν οι δόσεις 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, καθώς και το έκδοχο της αμφεταμίνης (φυσιολογικός ορός).

4.3. Ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση Δ⁹-THC στα F0 θηλυκά

Ξεκινώντας κατά τη γέννησή τους τα θηλυκά απογαλακτίζονταν τη μεταγεννητική ημέρα 21 και τοποθετούνταν ανά δύο σε κλωβούς ανάλογα με τη δόση της Δ⁹-THC που θα λάμβαναν (0, 0.1, 1 mg/kg, i.p.). Κατά το διάστημα από την μεταγεννητική ημέρα 25-27, όλα τα θηλυκά εξοικειώνονταν με τους πειραματιστές και να εξαλειφθεί οποιαδήποτε πιθανή επίδραση αργότερα του στρες στις πειραματικές διαδικασίες. Την 28^η μεταγεννητική ημέρα, τα θηλυκά δέχονταν ενδοπεριτοναϊκά είτε το έκδοχο της Δ⁹-THC, είτε τη δόση 0.1mg/kg Δ⁹-THC, είτε τη δόση 1mg/kg Δ⁹-THC. Δημιουργήθηκαν με αυτόν τον τρόπο τρεις ομάδες θηλυκών, αυτά που εκτέθηκαν στο έκδοχο (F0-VEH), αυτά που εκτέθηκαν στην Δ⁹-THC 0.1 (F0-Δ⁹-THC 0.1) και αυτά που εκτέθηκαν στην Δ⁹-THC 1 (F0- Δ⁹-THC 1). Οι ενδοπεριτοναϊκές χορηγήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση συριγγών ινσουλίνης όγκου 1ml και η βελόνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν 27G. Οι χορηγήσεις πραγματοποιούνταν μέρα παρά μέρα και συνολικά έγιναν 12 χορηγήσεις από την μεταγεννητική ημέρα 28, έως τη μεταγεννητική ημέρα 50. Δεκαπέντε έως δεκαεννιά ημέρες μετά την τελευταία χορήγηση της Δ⁹-THC, δηλαδή κατά την μεταγεννητική ημέρα 65 έως 69 αντίστοιχα τα θηλυκά τοποθετήθηκαν για ζευγάρωμα με ελεύθερα από την Δ⁹-THC αρσενικά. Τα αρσενικά τοποθετούνταν για ζευγάρωμα, ένα σε κάθε κλωβό που

περιείχε δύο θηλυκά, τα οποία είχαν λάβει την ίδια δόση της Δ^9 -THC. Μόλις διαπιστωνόταν η εγκυμοσύνη στα θηλυκά, το αρσενικό αφαιρούταν από τον κλωβό και τα θηλυκά τοποθετούνταν ένα σε κάθε κλωβό κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης τους.

4.4. F1 πειραματόζωα

Οι F1 απόγονοι των F0 θηλυκών, απογαλακτίστηκαν την 21η μεταγεννητική ημέρα (M.H). Για τις πειραματικές διαδικασίες που ακολούθησαν χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι F1 αρσενικοί απόγονοι, ενώ οι θηλυκοί απόγονοι θυσιάστηκαν μερικές μέρες μετά την γέννηση τους για να αποφευχθούν τυχόν επιδράσεις του οιστρικού κύκλου στις μετέπειτα πειραματικές διαδικασίες. Κατά τον απογαλακτισμό τους την 21^η ημέρα οι αρσενικοί απόγονοι στεγάστηκαν σε πλαστικούς κλωβούς σε ομάδες των τριών έως τεσσάρων ζώων σε κάθε κλωβό και ανάλογα με τη δόση της Δ^9 -THC που είχαν λάβει οι μητέρες τους (π.χ. ξεχωριστά τα ζώα των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC 0, 0.1 και 1mg/kg, i.p.) και κατ'αυτόν τον τρόπο δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες πειραματόζωων, τα F1 των F0-VEH μητέρων, τα F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων και τα F1 των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων. Όλοι οι F1 απόγονοι ελέγχθηκαν για την αντίδραση-ευαισθησία τους είτε στην Δ^9 -THC είτε στην αμφεταμίνη με τη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και την εκτίμησης της κινητικής τους δραστηριότητας στο ανοιχτό πεδίο.

4.5. Στερεοταξική χειρουργική

Όταν το βάρος των F1 αρσενικών ήταν μεταξύ 300 -350 gr, τοποθετούνταν σε στερεοταξική συσκευή προκειμένου να τους εμφυτευτεί ηλεκτρόδιο στην έσω τηλεγκεφαλική δεσμίδα για να ελεγχθούν αργότερα με τη διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Την ημέρα της εγχείρισης, αφού υπολογιζόταν το βάρος των πειραματόζωων τοποθετούνταν σε ένα διάφανο κουτί από Plexiglas με μικρή ποσότητα αιθέρα, προκειμένου να ζαλιστούν. Εν συνεχεία, εφόσον το πειραματόζωο είχε ζαλιστεί του χορηγούνταν ενδομυϊκώς 0.6 mg/kg θειική ατροπίνη για την αποφυγή της βραδυκαρδίας και των βρογχικών εκκρίσεων. Ακολούθως του χορηγούνταν ενδομυϊκώς 10 mg/kg ξυλαζίνης, η οποία είναι μυοχαλαρωτικό. Μετά από 20 λεπτά, ώστε να έχουν δράσει η ατροπίνη και η ξυλαζίνη, γινόταν στο πειραματόζωο ενδομυϊκή χορήγηση 100mg/kg κεταμίνης, η οποία έχει την κύρια αναισθητική δράση.

Η εμφύτευση του ηλεκτροδίου, που ήταν μονοπολικό, γινόταν αμφίπλευρα στην περιοχή του έξω υποθάλαμου, μιας περιοχής που βρίσκεται κατά μήκος της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας, σύμφωνα με τις συντεταγμένες που λήφθηκαν από τον στερεοταξικό άτλαντα των Paxinos και Watson (2007) (2.56 mm πίσω από το βρέγμα, 1.8 mm πλάγια της μέσης οβελιαίας ραφής του κρανίου και 8.6 mm κάτω από την επιφάνεια του κρανίου). Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν για την εμφύτευση προέρχονταν από ένα κομμάτι ανοξειδωτού ατσάλιου, πάχους 0.25mm, μήκους το πολύ 13mm και ήταν μονωμένα σε όλο το μήκος τους εκτός από τις δύο άκρες τους, όπου η μία προορίζονταν για εμφύτευση και στην άλλη άκρη τους ενώθηκαν με ακίδες προερχόμενες από βελόνη

21G. Η άνοδος που χρησιμοποιήθηκε προερχόταν από ανοξειδωτο ατσάλι πάχους 0.25 mm, το οποίο όμως σε σύγκριση με το ηλεκτρόδιο δεν ήταν καθόλου μονωμένο σε όλο το μήκος του. Πριν από την τοποθέτηση των ηλεκτροδίων, στο κρανίο του πειραματόζωου διανοίγονταν τέσσερις μικρές τρύπες και τοποθετούνταν τέσσερις μικρές βίδες, όπου σε μία από αυτές (κατά προτίμηση στην πίσω αριστερή), τοποθετούνταν η άνοδος. Στη συνέχεια, τοποθετούνταν τα ηλεκτρόδια, με τέτοιο τρόπο, ώστε να υπάρχει απόσταση μεταξύ τους και μεταξύ των βιδών, ικανή να αποτρέψει το ενδεχόμενο βραχυκυκλώματος. Όταν οι βίδες, τα ηλεκτρόδια και η άνοδος είχαν τοποθετηθεί, το όλο σύστημα σταθεροποιούνταν με την τοποθέτηση ακρυλικού πολυμερούς και γινόταν συρραφή του τριχωτού της κεφαλής μπροστά και πίσω από τον μηχανισμό με χειρουργικά ράμματα. Μετά το πέρας της εγχείρισης και καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, τα πειραματόζωα τοποθετούνταν ένα σε κάθε πλαστικό κλωβό και η τροφή και το νερό, ήταν διαθέσιμα κατά βούληση. Επίσης με το τέλος της στερεοταξικής επέμβασης, το πειραματόζωο αφηνόταν να αναρρώσει για μία εβδομάδα, κατά τη διάρκεια της οποίας υφίστατο εξοικείωση με τον πειραματιστή, αρχής γενομένης της επόμενης ημέρας από την εγχείριση. Μετά το πέρας της εβδομάδας ξεκινούσε η πειραματική διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

4.6. Ενδοκρανιακός αυτοερεθισμός

Μία εβδομάδα μετά την επέμβαση, η ομάδα των F1 πειραματόζωων (n=48, n=24 THC και n=24 αμφεταμίνη), ξεκίνησαν την εκμάθηση της διαδικασίας του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Πιο συγκεκριμένα οι επίμυες τοποθετήθηκαν σε ένα κλωβό από Plexiglas (μήκος=25cm, πλάτος=25cm και ύψος=30cm). Κάθε τέτοιος κλωβός διέθετε έναν ατσάλινο μοχλό λίγο πάνω από τη βάση του, ο οποίος ήταν συνδεδεμένος με ένα διεγέρτη (Med Associates, St. Albans, VT), που χορηγούσε ηλεκτρικά ερεθίσματα σταθερής έντασης (125μΑ) και μεταβαλλόμενης συχνότητας. Αρχικά υπήρχε η περίοδος της εξοικείωσης-εκπαίδευσης, προκειμένου να μάθει το κάθε πειραματόζωο την διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Η διάρκεια της εκπαίδευσης ήταν τρεις ημέρες και κάθε μέρα το πειραματόζωο εκπαιδευόταν για μία ώρα με την ένταση να είναι σταθερή στα 125μΑ και η συχνότητα να προσαρμόζεται στις ανάγκες του εκάστοτε πειραματόζωου (π.χ αν το πειραματόζωο δεν αντιδρούσε, η συχνότητα αυξανόταν, εάν το πειραματόζωο έδειχνε ότι το ερέθισμα το ενοχλεί ή του προξενεί δυσφορία η συχνότητα μειωνόταν). Κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης εκτιμήθηκαν διάφοροι δείκτες, όπως ο αριθμός των priming (δηλαδή των εξωγενώς χορηγούμενων ερεθισμάτων) που χρειάστηκε το ζώο μέχρι να πιέσει το μοχλό, ο αριθμός των πιέσεων του μοχλού και ο χρόνος που χρειάστηκε το πειραματόζωο για να μάθει τη διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, χωρίς να χρειάζεται πλέον η διαμεσολάβηση των priming.

Μετά το πέρας των τριών ημερών της εκπαίδευσης και την εκμάθηση της διαδικασίας του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ακολουθούσε το πρόγραμμα των μεταβαλλόμενων συχνοτήτων, όπου

η ένταση ήταν σταθερή στα 125μΑ και άλλαζε μόνο η συχνότητα. Κάθε μέρα το πρόγραμμα των μεταβαλλόμενων συχνοτήτων ξεκινούσε από τις υψηλότερες συχνότητες, συνέχιζε προς τις χαμηλότερες συχνότητες και προοδευτικά ξανανέβαινε στις υψηλότερες συχνότητες. Πριν την έναρξη κάθε συχνότητας, χορηγούνταν αυτόματα τρία ερεθίσματα (priming) ίδιας συχνότητας με αυτή που επρόκειτο να ακολουθήσει, προκειμένου να αντιληφθεί το πειραματόζωο την έναρξη της διαδικασίας. Μετά την αυτόματη χορήγηση από το διεγέρτη των τριών ερεθισμάτων, ακολουθούσε η μέτρηση, η οποία είχε διάρκεια 60s και κατά την οποία το πειραματόζωο όσες φορές πίεζε το μοχλό λάμβανε ηλεκτρικό ερέθισμα. Μετά την μέτρηση των 60s ακολουθούσε ένα διάλειμμα 30s, κατά το οποίο οι πιέσεις του μοχλού από το ζώο δεν ανταμείβονταν. Η όλη διαδικασία είχε διάρκεια περίπου 45 λεπτά και πραγματοποιούνταν κάθε μέρα για ένα διάστημα 10-15 ημερών μέχρι ο ουδός του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού να μην παρουσιάζει μεταβολή πάνω από 10% για τρεις συνεχόμενες ημέρες. Αυτό υποδείκνυε ότι το πειραματόζωο είχε σταθεροποιηθεί. Η εύρεση του ουδού, της ασυμπτώτου και της κλίσης της καμπύλης του ερεθισμού, γινόταν μέσα από ειδικό πρόγραμμα σε υπολογιστή.

Μετά τη σταθεροποίηση της συμπεριφοράς αυτοερεθισμού, ξεκινούσε η πειραματική διαδικασία με τη χορήγηση είτε της THC είτε της αμφεταμίνης. Στο πρώτο πείραμα μια ομάδα πειραματόζωων (n=24, δηλαδή F1 των F0-VEH n=8, F1 των F0- Δ⁹-THC0.1 n=8 και F1 των F0- Δ⁹-THC1 n=8) ξεκίνησε την πειραματική διαδικασία με την χορήγηση τεσσάρων δόσεων Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Κάθε δόση ξεκινούσε με μία μέτρηση στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό πριν τη χορήγηση του φαρμάκου, εν συνεχεία χορηγούνταν ενδοπεριτοναϊκά στο πειραματόζωο η εκάστοτε δόση της Δ⁹-THC και μεσολαβούσε ένα 20λεπτο ώστε το φάρμακο να δράσει. Μετά το 20λεπτο το ζώο επανατοποθετούταν στον πειραματικό κλωβό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και λαμβανόταν μία δεύτερη μέτρηση. Μετά το τέλος και της δεύτερης μέτρησης, το πειραματόζωο παρέμενε ένα 5λεπτο στον κλωβό διαμονής του και εν συνεχεία ακολουθούσε και τρίτη μέτρηση στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό ή πιο σωστά η δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ⁹-THC. Η κάθε μέτρηση είχε διάρκεια 45 λεπτά. Μεταξύ των πειραματικών ημερών διαμεσολαβούσε ένα κενό διάστημα δύο ημερών, ώστε να μεταβολιστεί πλήρως η Δ⁹-THC από το πειραματόζωο. Εν συνεχεία, συγκρινόταν ο ουδός του κάθε πειραματόζωου πριν τη μέτρηση με αυτούς που έβγαλε μετά τη χορήγηση της Δ⁹-THC, προκειμένου να διαπιστωθεί ενισχυτική ή ανηδονική δράση του φαρμάκου. Η ακολουθία των δόσεων της Δ⁹-THC ήταν διαφορετική για κάθε πειραματόζωο και ορίστηκε με πλήρη αντιστάθμιση.

Στο δεύτερο πείραμα μια άλλη ομάδα πειραματόζωων (n=24, δηλαδή F1 των F0-VEH n=8, F1 των F0- Δ⁹-THC0.1 n=8 και F1 των F0- Δ⁹-THC1 n=8), ξεκίνησε τα πειράματα στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό με τη λήψη των τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Παρόμοια με την Δ⁹-THC και εδώ λαμβανόταν μία μέτρηση πριν τη χορήγηση του φαρμάκου. Μετά το τέλος της πρώτης μέτρησης χορηγούταν ενδοπεριτοναϊκά στο πειραματόζωο μία από τις τέσσερις δόσεις της αμφεταμίνης και μεσολαβούσε ένα 5λεπτο ώστε το φάρμακο να δράσει. Εν συνεχεία, το

ζώο επανατοποθετούταν στο πειραματικό κλωβό και λαμβανόταν μία μέτρηση μετά την χορήγηση της αμφεταμίνης. Η κάθε μέτρηση ήταν διάρκειας 45 λεπτών. Και εδώ παρεμβαλλόταν μεταξύ των χορηγήσεων κενό διάστημα δύο ημερών για να μεταβολιστεί πλήρως το φάρμακο. Όπως και στο πείραμα της Δ^9 -THC η ακολουθία των δόσεων για κάθε πειραματόζωο καθορίστηκε με πλήρη αντιστάθμιση. Τέλος γινόταν σύγκριση ανάμεσα στον ουδό που είχε το πειραματόζωο πριν και μετά την χορήγηση της αμφεταμίνης για να διαπιστωθεί πιθανή ενισχυτική ή ανηδονική δράση του φαρμάκου.

4.7. Μελέτη της κινητικής δραστηριότητας

Μια ξεχωριστή ομάδα πειραματόζωων (n=60), χρησιμοποιήθηκαν για να μελετηθεί η κινητική τους δραστηριότητα. Για τη μελέτη της κινητικής δραστηριότητας χρησιμοποιήθηκαν κλωβοί από Plexiglas (μήκους=40cm, πλάτους=40cm και ύψους=40cm), οι οποίοι διέθεταν ηλεκτρονικό σύστημα με φωτοκύτταρο για την ανίχνευση της κινητικής δραστηριότητας του πειραματόζωου. Ειδικότερα, διέθεταν μία ζώνη φωτοκυττάρων σε απόσταση 6cm από το δάπεδο του κλωβού, δεξιά και αριστερά από τον κλωβό που μετρούσε τις μετακινήσεις του πειραματόζωου και μια ακόμη ζώνη φωτοκυττάρων σε απόσταση 30cm από το δάπεδο του κλωβού δεξιά και αριστερά από τον κλωβό, η οποία μετρούσε τις ανασηκώσεις του πειραματόζωου. Στους συγκεκριμένους κλωβούς καθώς το πειραματόζωο κινείται ή ανασηκώνεται, διακόπτεται η δέσμη ανάμεσα σε δύο φωτοκύτταρα και η μετακίνησή του ή η ανασήκωσή του καταγράφεται από τον ειδικό καταγραφέα (UGO BASILE S.R.L. Biological Research Apparatus, Activity Cage).

Στο πρώτο πείραμα μελετήθηκε η κινητική δραστηριότητα μιας ομάδας πειραματόζωων (n=30, δηλαδή F1 των F0-VEH n=10, F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 n=10 και F1 των F0- Δ^9 -THC1 n=10), με τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ^9 -THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Μόλις τα πειραματόζωα είχαν φτάσει στο κατάλληλο βάρος (ιδανικά πάνω από 265gr), ξεκίνησαν τα πειράματα της κινητικότητας με την χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της THC που προαναφέρθηκαν. Πριν όμως την έναρξη των πειραμάτων, τα ζώα τοποθετούνταν στους κλωβούς μέτρησης της κινητικής δραστηριότητας για 1h προκειμένου να εξοικειωθούν με τους κλωβούς και να μην υπάρχουν αργότερα επιδράσεις συμπεριφορών, όπως αυτή της εξερεύνησης κατά την πειραματική διαδικασία. Κατά την πρώτη μέρα της εξοικείωσης, λαμβανόταν μέτρηση 1h, η οποία χωριζόταν σε δύο μισάωρα, όπου το πρώτο μισάωρο αποτελούσε την μέτρηση της συμπεριφοράς εξερεύνησης που εκδηλώνει το πειραματόζωο, όταν εκτεθεί σε ένα νέο περιβάλλον. Τα φαρμακολογικά πειράματα της κινητικότητας ξεκίνησαν την επόμενη μέρα από αυτήν της εξοικείωσης. Ειδικότερα χορηγούταν στο κάθε πειραματόζωο ενδοπεριτοναϊκά μία από τις τέσσερις δόσεις της Δ^9 -THC (0, 0.1, 0.5 ή 1mg/kg, i.p.) και αμέσως μετά το πειραματόζωο τοποθετούταν στον κλωβό μέτρησης της κινητικής δραστηριότητας, όπου λαμβανόταν 3ωρη μέτρηση των μετακινήσεων και των ανασηκώσεών του, η οποία ήταν χωρισμένη σε 18 10λεπτα. Πριν την τοποθέτηση του επόμενου πειραματόζωου στον κλωβό μέτρησης της κινητικής δραστηριότητας, ο κλωβός καθαριζόταν καλά με απιονισμένο νερό και

οινόπνευμα, προκειμένου να μην στρεσάρεται το επόμενο ζώο από την μυρωδιά του προηγούμενου. Μεταξύ των πειραματικών ημερών μεσολαβούσαν δύο κενές ημέρες, προκειμένου να μεταβολιστεί ολοκληρωτικά το φάρμακο πριν την επόμενη χορήγηση και μέτρηση. Η σειρά με την οποία χορηγήθηκαν οι δόσεις, ήταν διαφορετική για κάθε πειραματόζωο και καθορίστηκε με πλήρη αντιστάθμιση.

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων μελετήθηκε η κινητική δραστηριότητα μιας άλλης ομάδας πειραματόζωων (n=30, δηλαδή F1 των F0-VEH n=10, F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 n=10 και F1 των F0- Δ^9 -THC1 n=10), με την χορήγηση τεσσάρων δόσεων αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Και εδώ η πρώτη μέρα ήταν αυτή της εξοικείωσης, κατά την οποία λαμβανόταν μέτρηση 1h, όπου το πρώτο μισό αφορούσε τη μέτρηση της συμπεριφοράς εξερεύνησης που εκδήλωνε το πειραματόζωο ως απόκριση σε ένα νέο περιβάλλον. Την επόμενη ημέρα ξεκινούσαν τα φαρμακολογικά πειράματα με την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση μιας από τις τέσσερις δόσεις της αμφεταμίνης που προαναφέρθηκαν και τοποθετούνταν για τη μέτρηση της κινητικής τους δραστηριότητας για 1h, η οποία ήταν χωρισμένη σε 12 5λεπτα. Και εδώ πραγματοποιούταν καθαρισμός με απιονισμένο νερό και οινόπνευμα για την τοποθέτηση του επόμενου πειραματόζωου, ενώ παρεμβάλλονταν και δύο ημέρες μεταξύ της πειραματικής ημέρας, ώστε να μεταβολιστεί το φάρμακο πλήρως. Τέλος η σειρά των δόσεων ήταν και εδώ διαφορετική για κάθε πειραματόζωο και καθορίστηκε με πλήρη αντιστάθμιση.

4.8. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση που πραγματοποιήθηκε αφορούσε τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και τα πειράματα της κινητικότητας. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα IBM SPSS Statistics 20.

Στα πειράματα της κινητικότητας πραγματοποιήθηκε σύγκριση μεταξύ των ομάδων τόσο στην THC (F1 των F0-VEH με τους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και τους F1 των F0- Δ^9 -THC1), όσο και στην αμφεταμίνη (F1 των F0-VEH με τους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και τους F1 των F0- Δ^9 -THC1). Επιπροσθέτως πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση και για την εξοικείωση των πειραματόζωων (habituation), αλλά και για την αντίδρασή τους στο νέο περιβάλλον (novelty).

Για τη σύγκριση μεταξύ ομάδων χρησιμοποιήθηκε η Ανάλυση Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (One Way Anova). Εάν διαπιστωνόταν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, διεξαγόταν επίσης το κριτήριο T για ανεξάρτητα δείγματα (Independent Samples T Test), για να γίνουν οι συγκρίσεις μεταξύ των τριών ομάδων και στην THC, αλλά και στην αμφεταμίνη.

Τέλος για την ανάλυση της εξοικείωσης και της απόκρισης στο νέο περιβάλλον πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (One Way Anova). Παρόμοια με τη σύγκριση μεταξύ ομάδων, αν από την Ανάλυση Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης προέκυπτε

στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, πραγματοποιούταν ακολούθως κριτήριο T για ανεξάρτητα δείγματα (Independent Samples T Test). Αυτές οι αναλύσεις αφορούσαν και την Δ^9 -THC και την αμφεταμίνη.

Στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, αρχικά πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των πέντε παραμέτρων/δεικτών από την φάση της εκπαίδευσης του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (προειδοποιητικά ερεθίσματα χορηγούμενα από τον πειραματιστή, λεπτά, συχνότητα, βασική τιμή του ουδού, βασική τιμή της ασυμπτώτου). Εν συνεχεία πραγματοποιήθηκε σύγκριση των αποτελεσμάτων (ουδός και ασύμπτωτος), τόσο στην THC (F1 των F0-VEH με τους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και τους F1 των F0- Δ^9 -THC1), όσο και στην αμφεταμίνη (F1 των F0-VEH με τους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και τους F1 των F0- Δ^9 -THC1).

Για τη σύγκριση μεταξύ ομάδων χρησιμοποιήθηκε και εδώ η Ανάλυση Διακύμανσης Μονής Κατεύθυνσης (One Way Anova), ενώ σε περίπτωση που διαπιστωνόταν στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα, διεξαγόταν επίσης το κριτήριο T για ανεξάρτητα δείγματα (Independent Samples T Test), για να γίνουν οι συγκρίσεις μεταξύ των τριών ομάδων και στην Δ^9 -THC, αλλά και στην αμφεταμίνη.

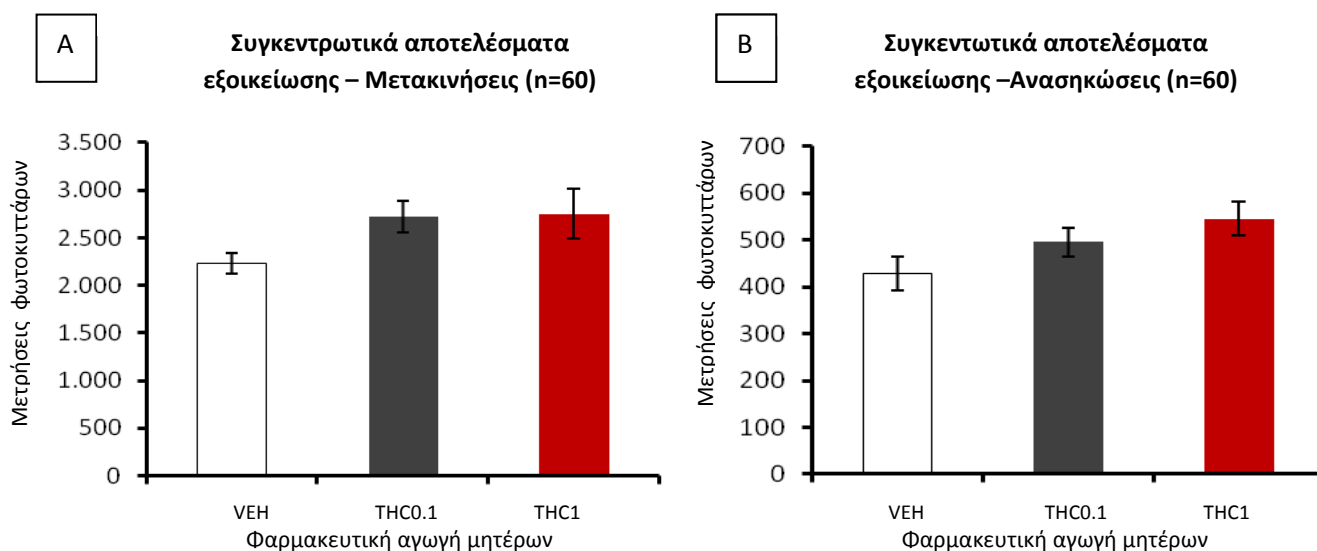
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. Πείραμα 1α: Μελέτη της εξοικείωσης (habituation) και της αντίδρασης σε ένα νέο περιβάλλον (novelty) των F1 επίμυων.

Στην Εικόνα 1 παρουσιάζονται σχηματικά τα συνολικά αποτελέσματα που αφορούν τη μέτρηση της εξοικείωσης για όλα τα F1 πειραματόζωα, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην εφηβεία τους σε Δ^9 -THC, περιλαμβάνοντας τόσο τους επίμυες που αργότερα θα λάμβαναν Δ^9 -THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.), όσο και τους επίμυες που αργότερα θα λάμβαναν αμφεταμίνη (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Στην Εικόνα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα σε επίπεδο μετακινήσεων και ανασηκώσεων για τους F1 επίμυες.

Τα αποτελέσματα από τη Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για τις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων στην εξοικείωση, δεν ήταν στατιστικώς σημαντικά [$F(2,57)=2.389$, $p=0.101$], γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρχε καμία διαφορά ανάμεσα στις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων (δηλαδή στους F1 των F0-VEH μητέρων, στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων και στους F1 των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων) (Εικόνα 1A).

Σε επίπεδο ανασηκώσεων η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης, ούτε εδώ έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,57)=2.896$, $p=0.063$], εξαλείφοντας με αυτόν τον τρόπο την οποιαδήποτε πιθανότητα ύπαρξης σημαντικής διαφοράς ανάμεσα στις ανασηκώσεις των τριών ομάδων των F1 πειραματόζωων (F1 των F0-VEH, F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και F1 των F0- Δ^9 -THC1) (Εικόνα 1B).

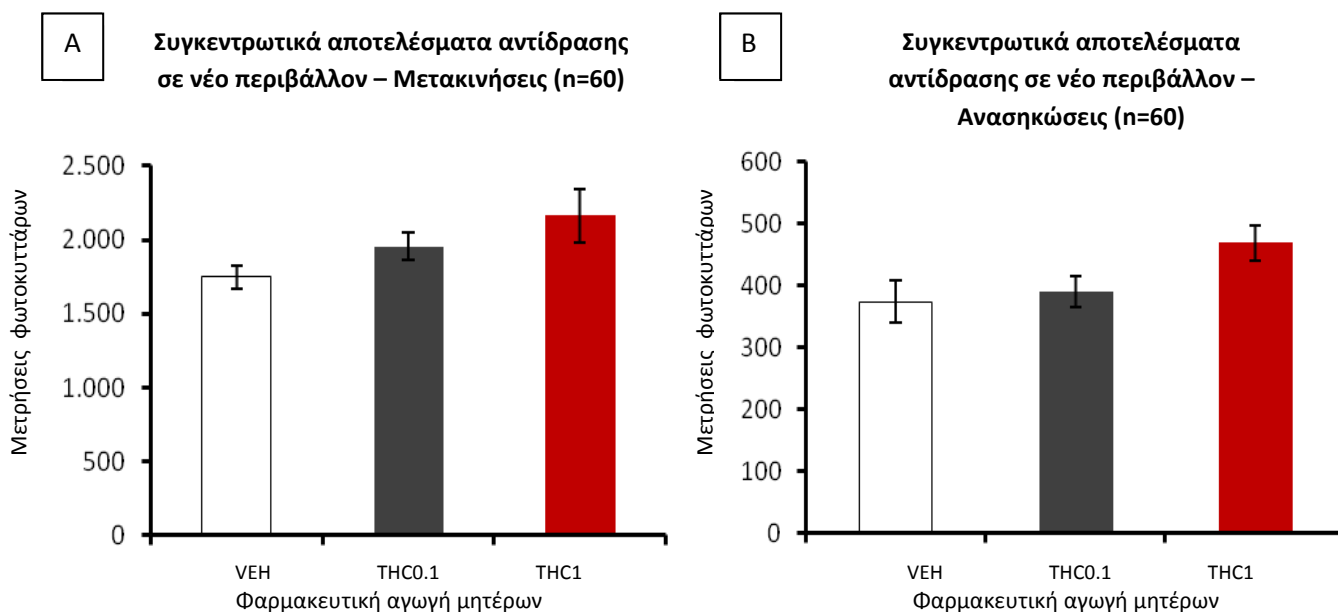


Εικόνα 1. Α. Μελέτη της εξοικείωσης (Habituation) μέσω της μέτρησης των μετακινήσεων των πειραματόζωων. Ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων, ενώ ο

οριζόντιος τις τρεις δόσεις της Δ^9 -THC στις οποίες είχαν εκτεθεί τα F0 θηλυκά κατά την εφηβεία τους (F0-VEH, F0- Δ^9 -THC0.1 και F0- Δ^9 -THC1). Β. Μελέτη της εξοικείωσης των πειραματόζων μέσω της μέτρησης των ανασηκώσεων των πειραματόζων. Ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζων, ενώ ο οριζόντιος τις τρεις δόσεις της Δ^9 -THC στις οποίες είχαν εκτεθεί τα F0 θηλυκά κατά την εφηβεία τους (F0-VEH, F0- Δ^9 -THC0.1 και F0- Δ^9 -THC1).

Εν συνεχεία στην Εικόνα 2, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα από τη μέτρηση της αντίδρασης σε ένα νέο περιβάλλον των F1 πειραματόζων, τόσο αυτών που αργότερα θα λάμβαναν Δ^9 -THC, όσο και αυτών που θα λάμβαναν αμφεταμίνη, σε επίπεδο μετακινήσεων και ανασηκώσεων.

Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), δεν έδειξε διαφορές μεταξύ των τριών ομάδων των F1 πειραματόζων, ούτε σε επίπεδο μετακινήσεων [$F(2,57)=2,771$, $p=0,071$] (Εικόνα 2A), ούτε σε επίπεδο ανασηκώσεων [$F(2,57)=2,988$, $p=0,058$] (Εικόνα 2B),όσον αφορά την αντίδραση σε νέο περιβάλλον.



Εικόνα 2. Α. Μελέτη της αντίδρασης σε ένα νέο περιβάλλον (Novelty), μέσω της μέτρησης των μετακινήσεων των F1 πειραματόζων. Ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τις μετακινήσεις των πειραματόζων, ενώ ο οριζόντιος τη δόση της Δ^9 -THC που έλαβαν κατά την εφηβεία τους τα F0 θηλυκά, δηλαδή οι μητέρες των F1 αρσενικών. Β. Μελέτη της αντίδρασης σε ένα νέο περιβάλλον (Novelty), μέσω της μέτρησης των ανασηκώσεων των F1 πειραματόζων. Ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τις ανασηκώσεις των πειραματόζων, ενώ ο οριζόντιος τη δόση της Δ^9 -THC που έλαβαν κατά την εφηβεία τους τα F0 θηλυκά, δηλαδή οι μητέρες των F1 αρσενικών.

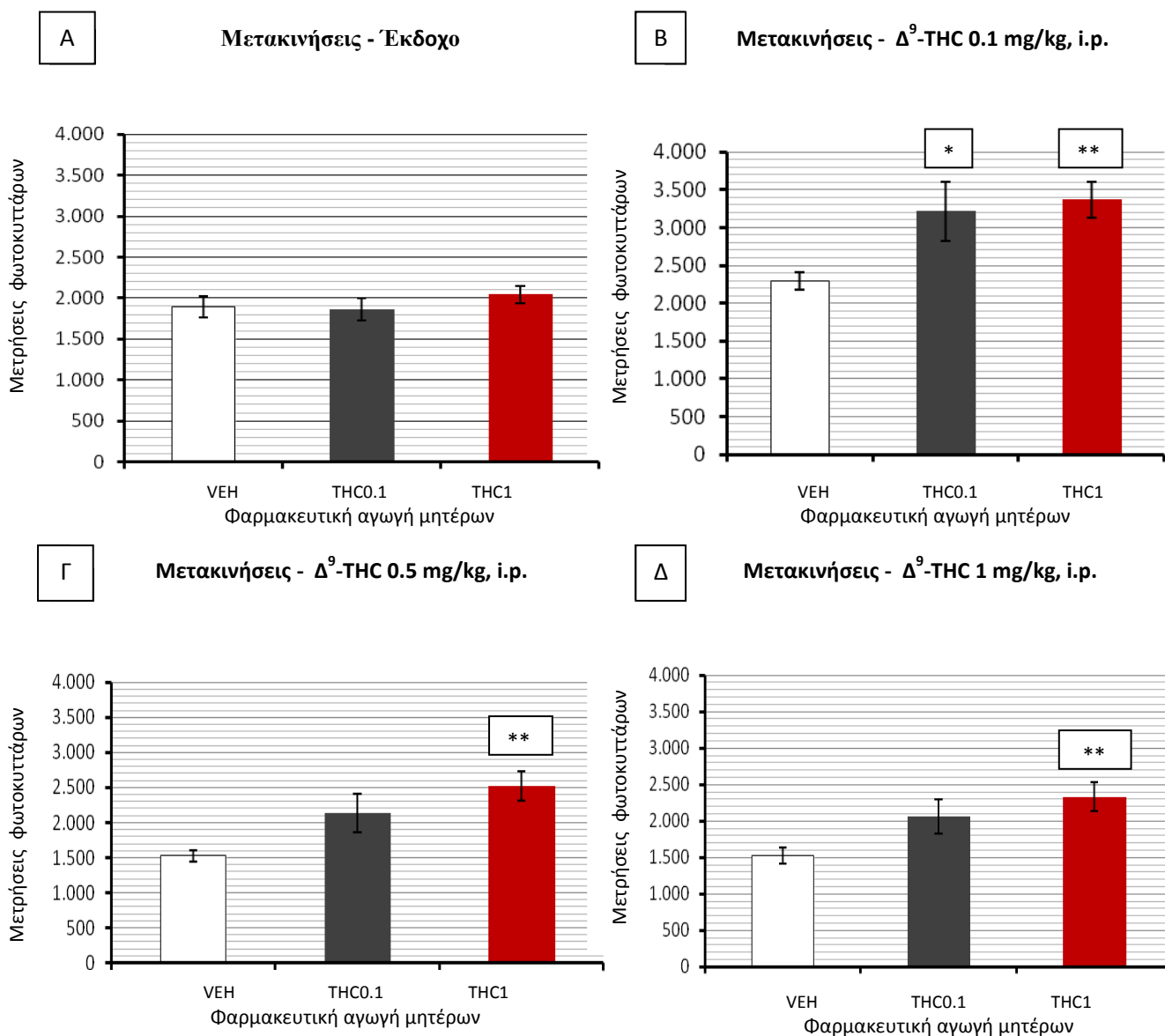
5.2. Πείραμα 1β: Μελέτη της κινητικής δραστηριότητας των F1 επίμυων που έλαβαν Δ⁹-THC.

Σε αυτό το σημείο πραγματοποιείται μια σύγκριση της κινητικότητας μεταξύ των τριών ομάδων των πειραματόζωων, δηλαδή ανάμεσα στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο κατά την εφηβεία τους (F1 των F0-VEH), στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ⁹-THC0.1 κατά την εφηβεία τους (F1 των F0- Δ⁹-THC0.1) και στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ⁹-THC1 κατά την εφηβεία τους (F1 των F0- Δ⁹-THC1), μετά την χορήγηση τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Στην Εικόνα 3 παρουσιάζονται αναλυτικά όλα τα αποτελέσματα που αφορούν τις μετακινήσεις των F1 με τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Παρακάτω θα προβούμε σε αναλυτική παρουσίαση των δεδομένων που αφορούν τις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων.

Η πραγματοποίηση Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) για τη δόση 0 της Δ⁹-THC δεν είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=0,560$, $p=0.578$]. (Εικόνα 3A). Η χρήση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) για τη δόση 0.1 mg/kg, i.p. της Δ⁹-THC είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=4,620$, $p=0.019$]. Η πραγματοποίηση t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η δόση 0.1mg/kg, i.p. αύξησε τις μετακινήσεις τόσο για τους F1 επίμυες των F0- Δ⁹-THC0.1 [$t(18)= -2.275$, $p=0.035$], όσο και για τους F1 επίμυες των F0- Δ⁹-THC1 μητέρων [$t(18)= -4.077$, $p=0.001$] σε σύγκριση με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων. (Εικόνα 3B)

Κατά παρόμοιο τρόπο η χρήση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) για τη δόση 0.5 mg/kg, i.p., είχε στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=5.999$, $p=0.007$]. Το t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η επίδραση της δόσης 0.5 mg/kg, i.p. στις μετακινήσεις των F1 επίμυων των F0- Δ⁹-THC0.1 μητέρων δεν ήταν στατιστικά σημαντική καθώς οι μετακινήσεις των F1 επίμυων των F0- Δ⁹-THC0.1 μητέρων, δεν διέφεραν από τις μετακινήσεις των F1 των F0-VEH [$t(10,411)= -2.130$, $p=0.058$]. Από την άλλη πλευρά όμως η δόση 0.5mg/kg, i.p. αύξησε τις μετακινήσεις για τους F1 επίμυες των F0- Δ⁹-THC1 μητέρων σε σύγκριση με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων [$t(11,4170)= -4.457$, $p=0.001$]. (Εικόνα 3Γ)

Τέλος όσον αφορά τη μέτρηση των μετακινήσεων με τη χορήγηση της δόσης 1mg/kg, i.p., η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=4.764$, $p=0.017$] και για αυτό πραγματοποιήθηκε επιπλέον και t-test για ανεξάρτητα δείγματα. Το t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η δόση της 1mg/kg, i.p. δεν προκάλεσε καμία στατιστικά σημαντική αλλαγή στις μετακινήσεις των F1 επίμυων των F0-THC0.1 μητέρων σε σχέση με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων [$t(13,225)= -2.098$, $p=0.056$]. Αντιθέτως το t-test ανεξάρτητων δειγμάτων έδειξε ότι η χορήγηση της δόσης 1mg/kg, i.p. αύξησε περισσότερο τις μετακινήσεις για τους F1 επίμυες των F0- Δ⁹-THC1 μητέρων σε σχέση με τις μετακινήσεις των F1 επίμυων των F0-VEH μητέρων και αυτή η αύξηση ήταν στατιστικά σημαντική [$t(14,336)= -3.491$, $p=0.003$]. (Εικόνα 3Δ)



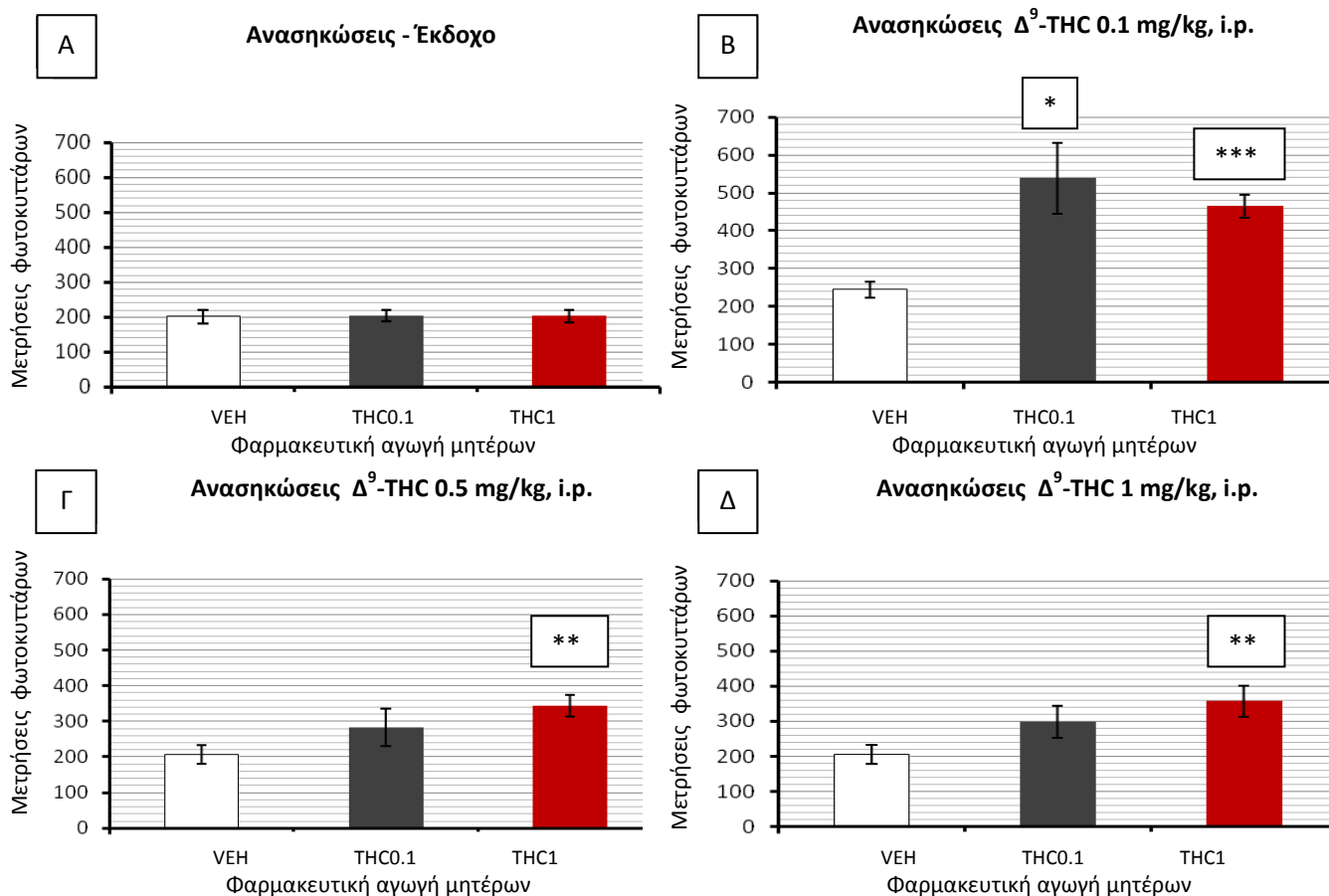
Εικόνα 3. Μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων μετά την χορήγηση τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αναπαριστούν τις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων και οι οριζόντιοι τη δόση της Δ⁹-THC που είχαν εκτεθεί οι F0 μητέρες τους κατά την εφηβεία, δημιουργώντας έτσι τρεις ομάδες τα F1 πειραματόζωα των F0-VEH (VEH), τα F1 των F0- Δ⁹-THC0.1 (Δ⁹-THC0.1) και τα F1 των F0- Δ⁹-THC1 (Δ⁹-THC1). Ο αστερίσκος (*) δηλώνει στατιστικά σημαντικές περισσότερες μετακινήσεις σε σχέση με την ομάδα των F1 πειραματόζωων των F0-VEH μητέρων (ή απλά την ομάδα VEH), $p < 0.05$, ενώ οι δύο αστερίσκοι (**)στατιστικά σημαντικές περισσότερες μετακινήσεις σε σχέση με την ομάδα VEH, $p < 0.01$. Α.Μετακινήσεις μετά από χορήγηση VEH της Δ⁹-THC. Β.Μετακινήσεις μετά από χορήγηση Δ⁹-THC0.1. Γ.Μετακινήσεις μετά από την χορήγηση Δ⁹-THC0.5. Δ.Μετακινήσεις μετά την χορήγηση Δ⁹-THC1.

Στην Εικόνα 4 πραγματοποιείται μια σύγκριση της κινητικότητας των F1 πειραματόζωων μετά την χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ^9 -THC, όμως αυτή τη φορά παρουσιάζονται οι ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων.

Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για τη δόση VEH της Δ^9 -THC δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)= 0,017, p=0.984$]. (Εικόνα 4A)

Για τη δόση 0.1 mg/kg, i.p. η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης, είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=6.911, p=0.004$]. Η εφαρμογή του t-test ανεξάρτητα δείγματα έδειξε, ότι η δόση 0.1mg/kg, i.p., αύξησε στατιστικώς σημαντικά τις ανασηκώσεις στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 [$t(9,824)= -3.059, p=0.012$] και στους F1 των F0- Δ^9 -THC1 [$t(18)= -6.056, p=0.000$] σε σύγκριση με την ομάδα του VEH. (Εικόνα 4B)

Αντιθέτως η πραγματοποίηση Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης για τη δόση 0.5 mg/kg, i.p. δεν είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=3.065, p=0.063$] και έτσι δεν πραγματοποιήθηκε t-test για ανεξάρτητα δείγματα. (Εικόνα 4Γ). Τέλος όσον αφορά την δόση 1 mg/kg, i.p., η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης παρείχε στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,27)=3.655, p=0.039$]. Η δόση 1mg/kg, i.p. δεν επέδρασε με διαφορετικό τρόπο στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και στους F1 των F0-VEH, καθώς το t-test για ανεξάρτητα δείγματα που πραγματοποιήθηκε δεν έδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους [$t(18)= -1.702, p=0.106$]. Από την άλλη πλευρά όμως η δόση 1 mg/kg, i.p. προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση των ανασηκώσεων στους F1 των F0- Δ^9 -THC1 σε σχέση με την ομάδα του VEH, όπως φάνηκε από την εφαρμογή t-test ανεξάρτητων δειγμάτων [$t(18)= -2.939, p=0.009$]. (Εικόνα 4Δ)



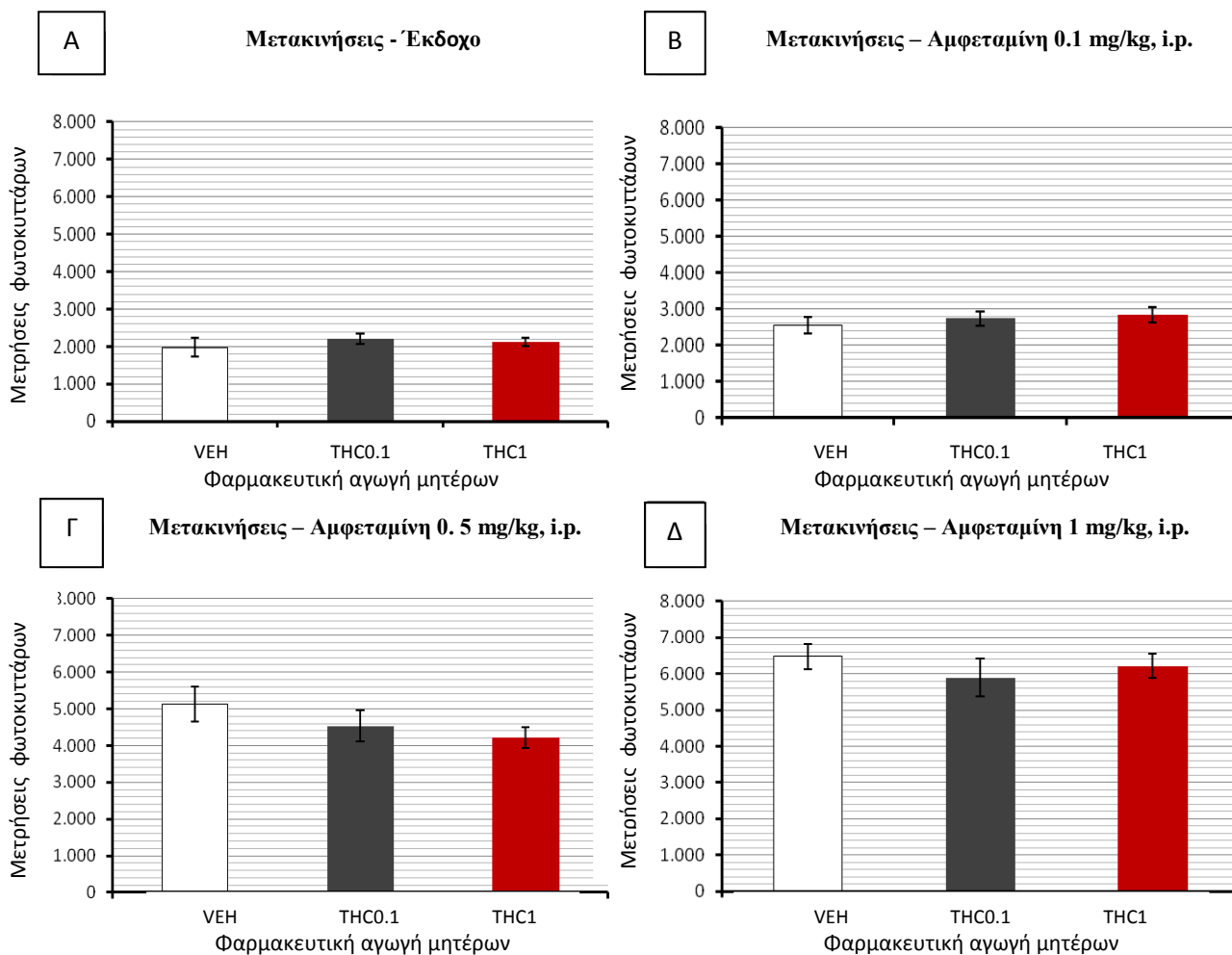
Εικόνα 4. Ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων μετά την χορήγηση τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αναπαριστούν τις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων και οι οριζόντιοι τη δόση της Δ⁹-THC που είχαν εκτεθεί οι F0 μητέρες τους κατά την εφηβεία, δημιουργώντας έτσι τρεις ομάδες τα F1 πειραματόζωα των F0-VEH (VEH), τα F1 των F0- Δ⁹-THC0.1 (Δ⁹-THC0.1) και τα F1 των F0- Δ⁹-THC1 (Δ⁹-THC1). Ο αστερίσκος (*) δηλώνει στατιστικά σημαντικές περισσότερες ανασηκώσεις σε σχέση με την ομάδα των F1 πειραματόζωων των F0-VEH μητέρων (ή απλά την ομάδα VEH), p<0.05, οι δύο αστερίσκοι (**) σημαντικά περισσότερες ανασηκώσεις σε σχέση με την ομάδα VEH, p<0.01, ενώ οι τρεις αστερίσκοι (***), σημαντικά περισσότερες ανασηκώσεις σε σύγκριση με την ομάδα VEH, p<0.001. Α. Ανασηκώσεις μετά από χορήγηση της δόσης 0 mg/kg, i.p. της Δ⁹-THC. Β.Ανασηκώσεις μετά από χορήγηση Δ⁹-THC0.1. Γ. Ανασηκώσεις μετά από την χορήγηση Δ⁹-THC0.5. Δ. Ανασηκώσεις μετά την χορήγηση Δ⁹-THC1.

5.3. Πείραμα 1γ: Μελέτη της κινητικής δραστηριότητας των F1 επίμυων που έλαβαν αμφεταμίνη.

Σε αυτό το μέρος των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κινητικότητας και πραγματοποιείται ουσιαστικά σύγκριση της κινητικής δραστηριότητας ανάμεσα στις τρεις ομάδες πειραματόζωων, δηλαδή ανάμεσα στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο κατά

την εφηβεία τους (F1 των F0-VEH), στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1 κατά την εφηβεία τους (F1 των F0- Δ^9 -THC0.1) και στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1 κατά την εφηβεία τους (F1 των F0- Δ^9 -THC1), μετά την χορήγηση τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Στην Εικόνα 5 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από την ανάλυση και τη σύγκριση των μετακινήσεων των F1 πειραματόζωων που έλαβαν τις τέσσερις δόσεις της αμφεταμίνης.

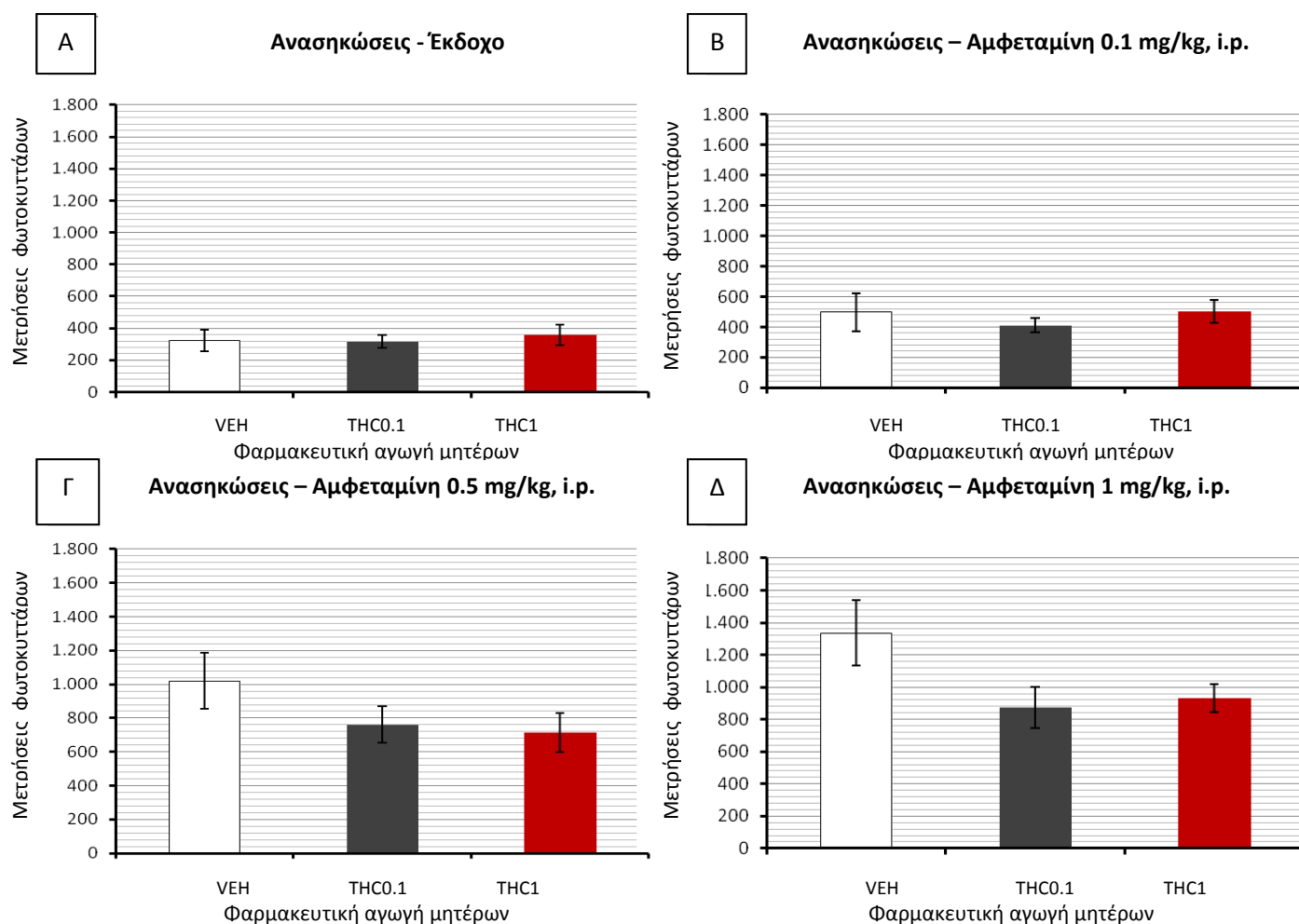
Η πραγματοποίηση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA), έδειξε ότι η δόση 0 mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης δεν είχε καμία επίδραση σε καμία από τις δύο ομάδες των F1 πειραματόζωων (δηλαδή τα F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και τα F1 των F0- Δ^9 -THC1) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (δηλαδή τα F1 των F0-VEH) [$F(2,27)=0,399$, $p=0,675$] (Εικόνα 5A). Επίσης η δόση 0.1mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης δεν είχε ούτε αυτή κάποια επίδραση στις ομάδες, όπως φάνηκε από τα αποτελέσματα της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) [$F(2,27)=0,437$, $p=0,651$] (Εικόνα 5B). Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκαν και τα αποτελέσματα που αφορούν τη δόση 0.5mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης, καθώς όπως φάνηκε από τη Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) δεν υπήρχε κανένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,27)=1,342$, $p=0,278$] (Εικόνα 5Γ). Τέλος ούτε η δόση 1mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης δεν είχε κάποια επίδραση στις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων, όπως φάνηκε από την Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) [$F(2,27)=0,503$, $p=0,610$] (Εικόνα 5Δ).



Εικόνα 5. Μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων μετά την χορήγηση τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αναπαριστούν τις μετακινήσεις των F1 πειραματόζωων και οι οριζόντιοι τη δόση της Δ^9 -THC στην οποία είχαν εκτεθεί οι F0 μητέρες τους κατά την εφηβεία, δημιουργώντας έτσι τρεις ομάδες τα F1 πειραματόζωα των F0-VEH (VEH), τα F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 (Δ^9 -THC0.1) και τα F1 των F0- Δ^9 -THC1 (Δ^9 -THC1). A. Μετακινήσεις μετά από χορήγηση εκδόχου. B. Μετακινήσεις μετά από χορήγηση Amph0.1. Γ. Μετακινήσεις μετά από την χορήγηση Amph0.5. Δ. Μετακινήσεις μετά την χορήγηση Amph1.

Στην Εικόνα 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη μέτρηση των ανασηκώσεων των F1 πειραματόζωων, μετά από την χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης. Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για τη δόση 0 mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης δεν είχε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,27)=0,128$, $p=0.881$] (Εικόνα 6A). Παρομοίως ούτε η δόση 0.1mg/kg, i.p., δεν είχε καμία επίδραση στις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων, όπως φάνηκε από την Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) [$F(2,27)=0,330$, $p=0.722$] (Εικόνα 6B). Κανένα στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα δεν προέκυψε από την εφαρμογή της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης, ούτε και για τη δόση 0.5mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης [$F(2,27)=1.565$, $p=0.228$] (Εικόνα 6Γ), ενώ καμία απολύτως

επίδραση δεν είχε και η δόση 1mg/kg, i.p. στις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων [$F(2,27)=2.978$, $p=0.068$] (Εικόνα 6Δ).



Εικόνα 6. Ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων μετά τη χορήγηση τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αναπαριστούν τις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων και οι οριζόντιοι τη δόση της Δ^9 -THC στην οποία είχαν εκτεθεί οι F0 μητέρες τους κατά την εφηβεία, δημιουργώντας έτσι τρεις ομάδες τα F1 πειραματόζωα των F0-VEH (VEH), τα F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 (Δ^9 -THC0.1) και τα F1 των F0- Δ^9 -THC1 (Δ^9 -THC1). Α. Ανασηκώσεις μετά από χορήγηση εκδόχου. Β.Ανασηκώσεις μετά από χορήγηση Amph0.1. Γ. Ανασηκώσεις μετά από την χορήγηση Amph0.5. Δ. Ανασηκώσεις μετά την χορήγηση Amph1.

5.4. Πείραμα 2α: Μέτρηση των παραμέτρων/δεικτών της εκπαίδευσης του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.

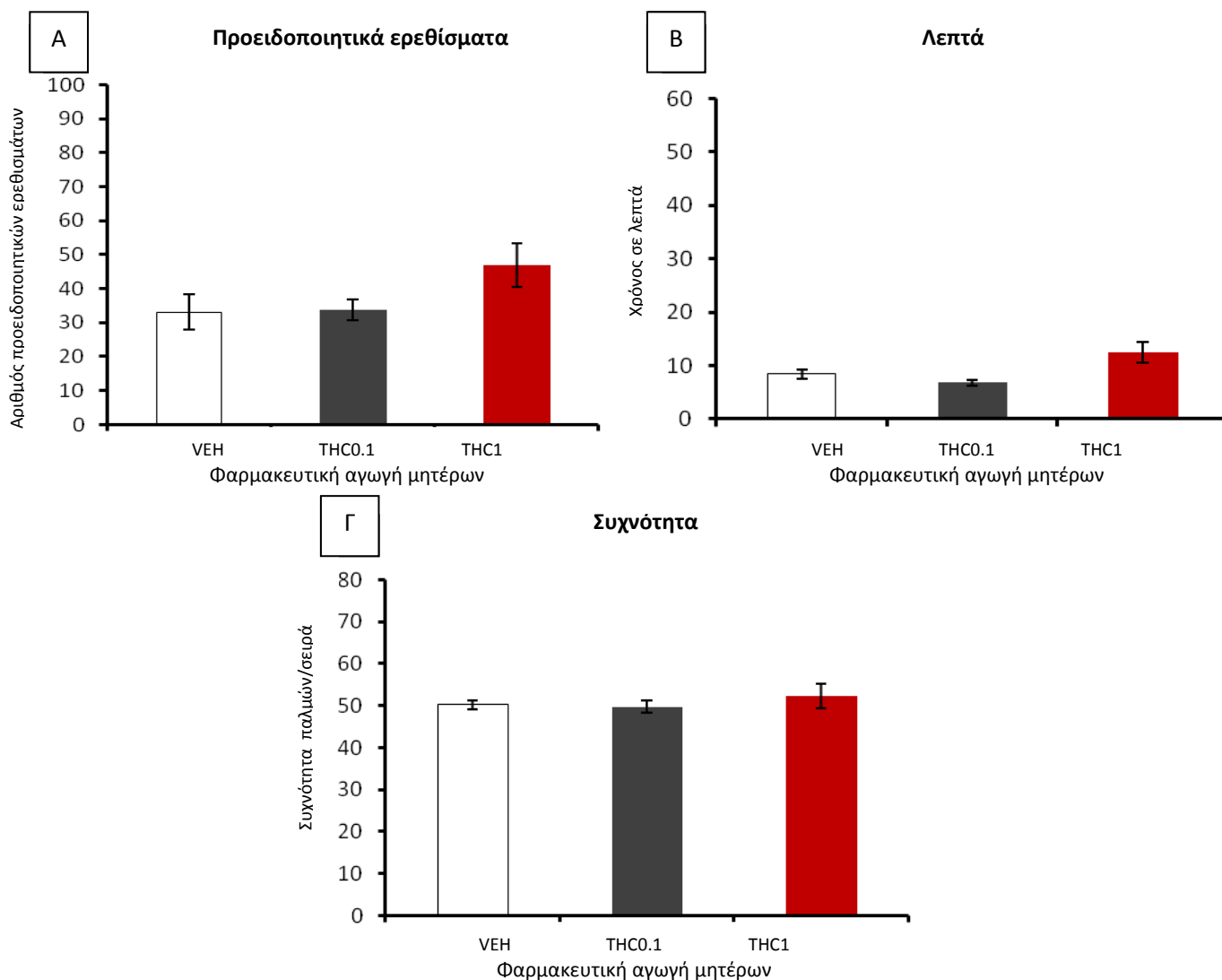
Σε αυτό το τμήμα των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την εκπαίδευση των F1 πειραματόζωων στη διαδικασία του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού συνολικά για όλα τα πειραματόζωα που συμμετείχαν σε αυτά τα πειράματα, δηλαδή τόσο για τους F1 επίμυες που αργότερα τους χορηγήθηκε Δ^9 -THC, όσο και για τους επίμυες που αργότερα τους χορηγήθηκαν

αμφεταμίνη. Σε αυτές τις παραμέτρους/δείκτες περιλαμβάνονται μετρήσεις των ερεθισμάτων που χορηγήθηκαν εξωγενώς από τον πειραματιστή κατά τις τρεις πρώτες μέρες της εκπαίδευσης, προκειμένου να ξεκινήσουν να πιέζουν μόνα τους το μοχλό (primings), περιλαμβάνονται ακόμα μετρήσεις του χρόνου (σε λεπτά) που χρειάστηκε προκειμένου να μάθουν τα πειραματόζωα να πιέζουν μόνα τους το μοχλό κατά τις τρεις πρώτες μέρες της εκπαίδευσης (minutes) και ακόμα υπάρχουν μετρήσεις του μέσου όρου της συχνότητας που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης στην εκάστοτε ομάδα των F1 πειραματόζωων (frequency). Τέλος, υπάρχουν μετρήσεις του μέσου όρου του ουδού και της ασυμπτώτου της κάθε ομάδας πειραματόζωων κατά το τέλος της περιόδου εκπαίδευσης του προγράμματος των μεταβαλλόμενων συχνοτήτων, δηλαδή πριν τις χορηγήσεις είτε της Δ^9 -THC είτε της αμφεταμίνης. Στις Εικόνες 7 και 8, παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις των παραπάνω παραμέτρων/δεικτών.

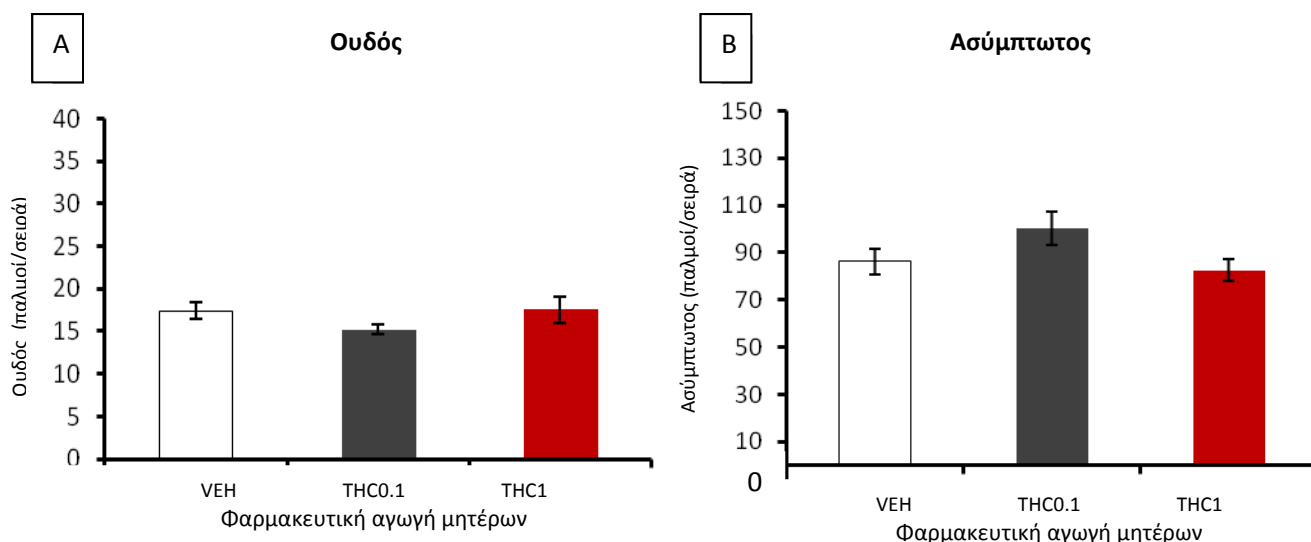
Αρχικά η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για τα προειδοποιητικά ερεθίσματα χορηγούμενα από τον πειραματιστή δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα, υποδεικνύοντας ότι δεν υπήρχε διαφορά ανάμεσα στους επίμυες των οποίων οι μητέρες έλαβαν Δ^9 -THC0.1 και Δ^9 -THC1, σε σύγκριση με τους επίμυες των οποίων οι μητέρες έλαβαν έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH) [$F(2,45)=2.376$, $p=0.104$] (Εικόνα 7A).

Από την άλλη πλευρά η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για τα λεπτά, είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,45)=5.027$, $p=0.011$]. Γι' αυτό το λόγο διεξήχθη επιπλέον και t-test ανεξάρτητων δειγμάτων για να διαπιστωθούν οι διαφορές ανάμεσα στις ομάδες, το οποίο ωστόσο δεν έδειξε καμία διαφορά ούτε για τους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 [$t(30)=1.503$, $p=0.143$], ούτε για τους F1 των F0- Δ^9 -THC1 [$t(21,283)= -1.850$, $p=0.078$], όταν συγκρίθηκαν με τους F1 των F0-VEH (Εικόνα 7B).

Περνώντας τώρα στην ανάλυση της συχνότητας (frequency), η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης δεν έδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων των F1 πειραματόζωων [$F(2,45)=0.439$, $p=0.647$] (Εικόνα 7Γ). Παρομοίως ούτε η ανάλυση του ουδού επέδειξε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων [$F(2,45)=1.473$, $p=0.240$] (Εικόνα 8A), ενώ ούτε από την ανάλυση της ασυμπτώτου προέκυψε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,47)=2.647$, $p=0.082$] (Εικόνα 8A).



Εικόνα 7. Α. Μέτρηση των ερεθισμάτων που χορηγήθηκαν εξωγενώς για να μάθουν τα πειραματόζωα να πιέζουν το μοχλό (primings), όπου ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο των προειδοποιητικών ερεθισμάτων χορηγούμενων από τον πειραματιστή και ο οριζόντιος άξονας αντιπροσωπεύει τις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων (F1 των F0-VEH, F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και F1 των F0- Δ^9 -THC1). Β. Μέτρηση των λεπτών που χρειάστηκαν για την εκμάθηση της διαδικασίας (minutes), όπου ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο των λεπτών και ο οριζόντιος άξονας τις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων. Γ. Μέτρηση της συχνότητας (frequency) που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της εκπαίδευσης, όπου ο κάθετος άξονας αναπαριστά τον μέσο όρο των συχνοτήτων, ενώ ο οριζόντιος άξονας αναφέρεται στις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων.



Εικόνα 8. Α. Ο ουδός (threshold) των F1 πειραματόζωων μετά την σταθεροποίηση του προγράμματος των μεταβαλλόμενων συχνοτήτων και πριν την διεξαγωγή των φαρμακολογικών πειραμάτων, όπου ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο του ουδού και ο οριζόντιος τις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων. Β. Μέτρηση της ασυμπτώτου (asymptote) των F1 πειραματόζωων κατά τη διάρκεια του προγράμματος των μεταβαλλόμενων συχνοτήτων, πριν την διεξαγωγή των πειραμάτων, όπου ο κάθετος άξονας αντιπροσωπεύει τον μέσο όρο της ασυμπτώτου και ο οριζόντιος τις τρεις ομάδες των F1 πειραματόζωων.

5.5. Πείραμα 2β: Μελέτη των επιδράσεων της Δ⁹-THC στον ουδό και στην ασύμπτωτο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.

Σε αυτό το τμήμα των αποτελεσμάτων, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού (ουδός και ασύμπτωτος), που αφορούν τις τρεις ομάδες F1 πειραματόζωων, δηλαδή τους F1 των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους σε έκδοχο της Δ⁹-THC (F1 των F0-VEH), τους F1 των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ⁹-THC0.1 (F1 των F0- Δ⁹-THC0.1) και τους F1 των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ⁹-THC1 (F1 των F0- Δ⁹-THC1). Οι τρεις ομάδες των F1 επίμυων ελέγχθηκαν για τις αποκρίσεις τους στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό μετά τη χορήγηση τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.), ακριβώς όπως και στα πειράματα της κινητικότητας. Όπως προαναφέραμε στην μεθοδολογία τα F1 πειραματόζωα μετά την χορήγηση της εκάστοτε δόσης της Δ⁹-THC, τοποθετούνταν στον κλωβό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού μια φορά και λαμβανόταν μια πρώτη μέτρηση και μετά το πέρας 15 λεπτών τοποθετούνταν ξανά και λαμβανόταν και δεύτερη μέτρηση. Στην Εικόνα 9 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα για τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού για τις τρεις ομάδες των F1 επίμυων, μετά τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC που προαναφέρθηκαν και περιλαμβάνονται τόσο η πρώτη, όσο και η δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της εκάστοτε δόσης

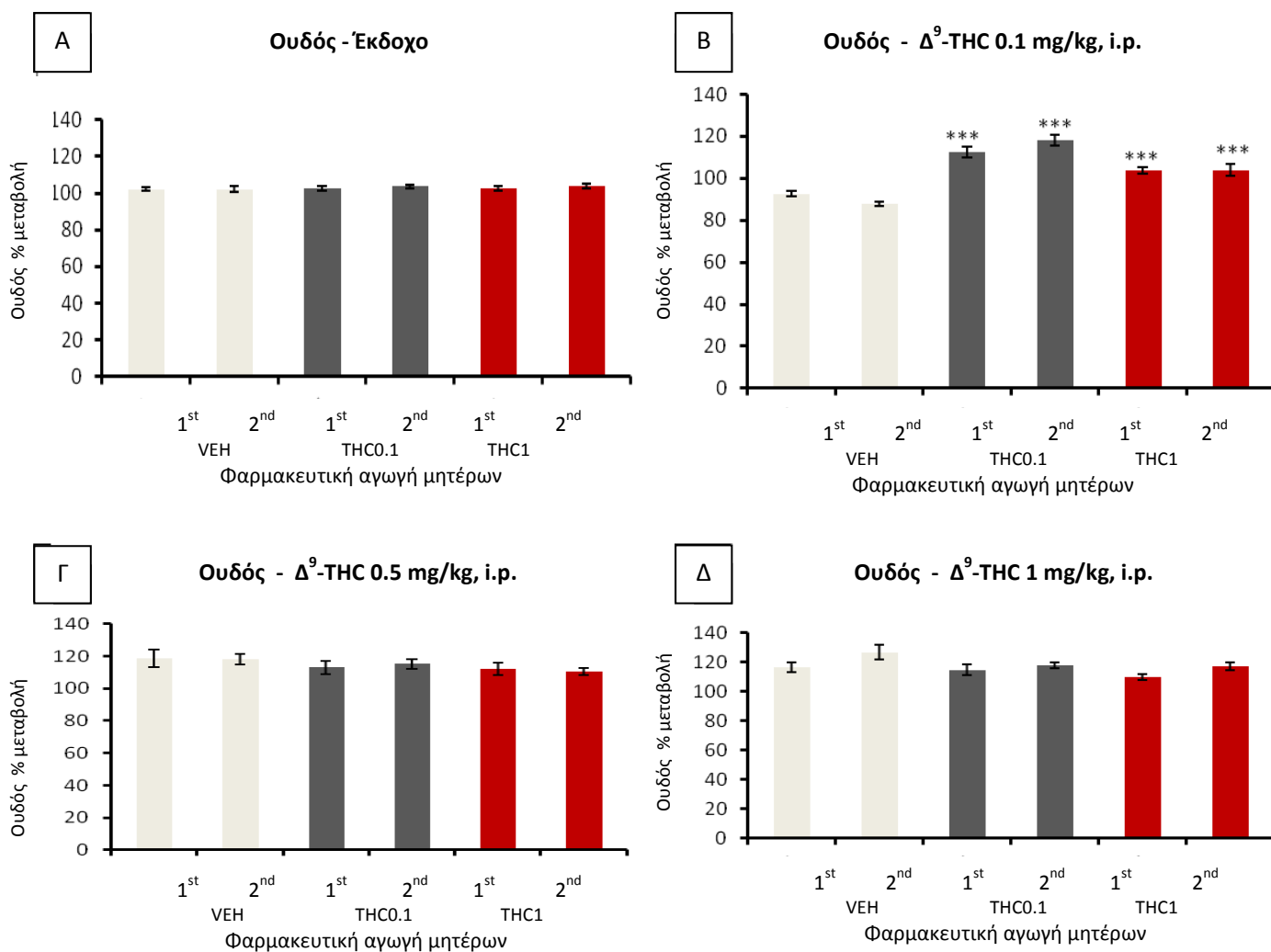
της Δ^9 -THC. Στη συνέχεια θα αναφερθούμε αναλυτικά στα αποτελέσματα από τη μέτρηση του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στους F1 επίμυες που έλαβαν Δ^9 -THC.

Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), έδειξε ότι το έκδοχο, δεν επηρέασε ούτε τους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC0.1 (F1 των F0- Δ^9 -THC0.1), ούτε τους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC1 (F1 των F0- Δ^9 -THC1), τόσο κατά τη πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=0.015$, $p=0.985$], όσο και κατά τη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=0.404$, $p=0.673$] (Εικόνα 9Α).

Από την άλλη πλευρά για τη δόση Δ^9 -THC0.1 προέκυψαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) για την πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC0.1, είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,21)=26.989$, $p=0.000$]. Γι' αυτό το λόγο περαιτέρω αναλύσεις με t-test για ανεξάρτητα δείγματα, έδειξαν ότι η δόση Δ^9 -THC0.1 αύξησε τον ουδό στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, δηλαδή τους F1 των F0-VEH [$t(10,214)=-6.767$, $p=0.000$], ενώ αύξησε επίσης και τον ουδό στους F1 των F0- Δ^9 -THC1, σε σύγκριση με τους F1 των F0-VEH [$t(14)=-5.430$, $p=0.000$]. Με παρόμοιο τρόπο η δόση Δ^9 -THC0.1 αύξησε με στατιστικά σημαντικό τρόπο τον ουδό των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην εφηβεία τους σε Δ^9 -THC και στη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC0.1, όπως φάνηκε από την εφαρμογή της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA) [$F(2,21)=43.520$, $p=0.000$]. Το t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η δόση Δ^9 -THC0.1, αύξησε τον ουδό του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 [$t(14)=-10.054$, $p=0.000$], αλλά και στους F1 των F0- Δ^9 -THC1 [$t(14)=-5.605$, $p=0.000$], σε σύγκριση με τον ουδό των F1 των F0-VEH, κατά τη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC0.1 (Εικόνα 9B).

Καμία επίδραση στον ουδό των F1 πειραματόζωων που οι μητέρες τους είχαν λάβει Δ^9 -THC, δεν είχε η δόση Δ^9 -THC0.5, με βάση την ανάλυση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης και στην πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=0.657$, $p=0.529$], αλλά και στη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=1.947$, $p=0.168$] (Εικόνα 9Γ).

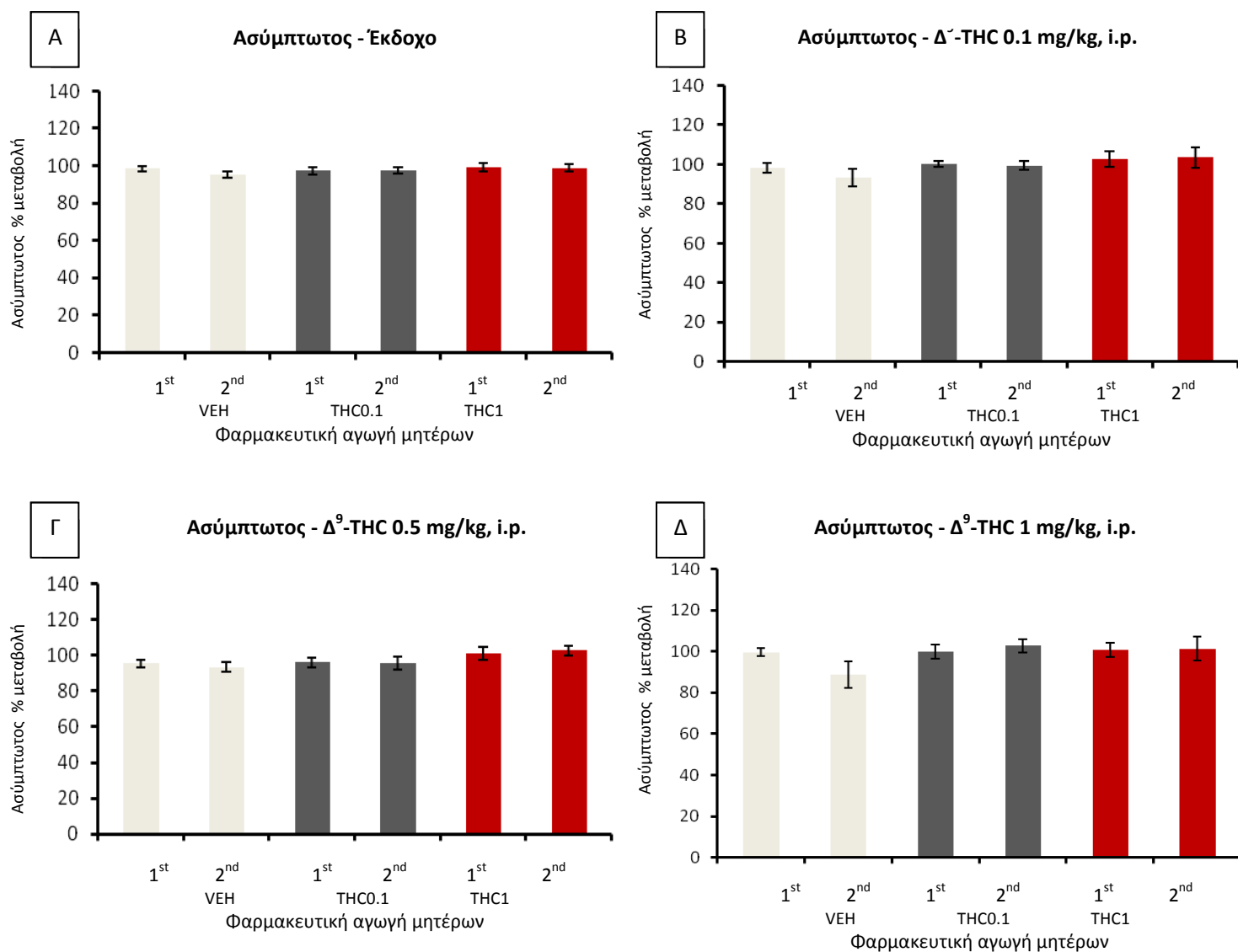
Παρομοίως η δόση Δ^9 -THC1 δεν είχε καμία επίδραση στον ουδό των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC, ούτε στην πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=1.196$, $p=0.322$], ούτε στη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση του φαρμάκου [$F(2,21)=2.329$, $p=0.122$] (Εικόνα 9Δ).



Εικόνα 9. Ο ουδός του ενδοκρανιακού ερεθισμού των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ⁹-THC, μετά τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ οι οριζόντιοι τις τρεις δόσεις της Δ⁹-THC (0, 0.1 και 1 mg/kg, i.p.), στις οποίες είχαν εκτεθεί οι μητέρες κατά την εφηβεία τους (η ένδειξη 1st και 2nd δίπλα από κάθε ομάδα στον οριζόντιο άξονα, αντιπροσωπεύει την πρώτη και τη δεύτερη μέτρηση αντίστοιχα με την χορήγηση της εκάστοτε δόσης της Δ⁹- THC). Οι τρεις αστερίσκοι (***) , υποδεικνύουν έναν ουδό σημαντικά διαφορετικό από τον ουδό της ομάδας ελέγχου, δηλαδή τον ουδό των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε έκδοχο κατά την εφηβεία τους, p<0.001. A.Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση εκδόχου. B. Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Δ⁹-THC0.1. Γ. Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση THC0.5. Δ. Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Δ⁹-THC1.

Στην Εικόνα 10 παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της ασύμπτωτου του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού για F1 επίμυες, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην THC κατά την εφηβεία τους, με τη χορήγηση τεσσάρων δόσεων της Δ^9 -THC (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.) και περιλαμβάνονται η πρώτη, αλλά και η δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της κάθε δόσης της Δ^9 -THC. Ακολούθως θα αναφερθούμε αναλυτικά στα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη στατιστική ανάλυση της ασύμπτωτου των F1 επίμυων.

Η χρήση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA), για το έκδοχο δεν είχε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα ούτε στην πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση του εκδόχου [$F(2,21)=0,215$, $p=0.809$], ούτε στη δεύτερη [$F(2,21)=0.903$, $p=0.420$], δείχνοντας με αυτόν τον τρόπο ότι το έκδοχο δεν επηρέασε την ασύμπτωτο των F1 επίμυων των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC (Εικόνα 10Α). Παρομοίως ούτε η δόση Δ^9 -THC0.1, επηρέασε την ασύμπτωτο των F1 πειραματόζωων, καθώς η χρήση της Μονής Ανάλυσης Διακύμανσης (ANOVA), τόσο για την πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC0.1 [$F(2,21)=0.570$, $p=0.574$], όσο και για τη δεύτερη μέτρηση [$F(2,21)=1.567$, $p=0.232$], δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα (Εικόνα 10B). Κάτι ανάλογο συνέβη και με την ανάλυση των αποτελεσμάτων της ασύμπτωτου με τη χορήγηση στους F1 επίμυες της δόσης Δ^9 -THC0.5, αφού η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα ούτε στην περίπτωση, της πρώτης μέτρησης μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC0.5 [$F(2,21)=1.082$, $p=0.357$], ούτε στην περίπτωση της δεύτερης μέτρησης μετά τη χορήγηση της Δ^9 -THC0.5 [$F(2,21)=2.542$, $p=0.103$] (Εικόνα 10Γ). Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκαν και τα αποτελέσματα που αφορούν τη δόση Δ^9 -THC1 σε επίπεδο μέτρησης της ασύμπτωτου, αφού η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), δεν έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα ούτε στην πρώτη μέτρηση μετά τη χορήγηση της Δ^9 -THC1 [$F(2,21)=0.050$, $p=0.951$], ούτε στη δεύτερη μέτρηση [$F(2,21)=2.121$, $p=0.145$] (Εικόνα 10Δ).



Εικόνα 10. Η ασύμπτωτος του ενδοκρανιακού αυτόερεθισμού των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ⁹-THC, μετά τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της Δ⁹-THC (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο της ασύμπτωτου του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ οι οριζόντιοι τις τρεις δόσεις της Δ⁹-THC (0, 0.1 και 1mg/kg, i.p.), στις οποίες είχαν εκτεθεί οι μητέρες κατά την εφηβεία τους (η ένδειξη 1st και 2nd δίπλα από κάθε ομάδα στον οριζόντιο άξονα, αντιπροσωπεύει την πρώτη και τη δεύτερη μέτρηση αντίστοιχα μετά τη χορήγηση της εκάστοτε δόσης της Δ⁹-THC). Α. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση VEH της Δ⁹-THC. Β. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Δ⁹-THC0.1. Γ. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Δ⁹-THC0.5. Δ. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Δ⁹-THC1.

5.6. Πείραμα 2γ: Μελέτη των επιδράσεων της αμφεταμίνης στον ουδό και στην ασύμπτωτο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων.

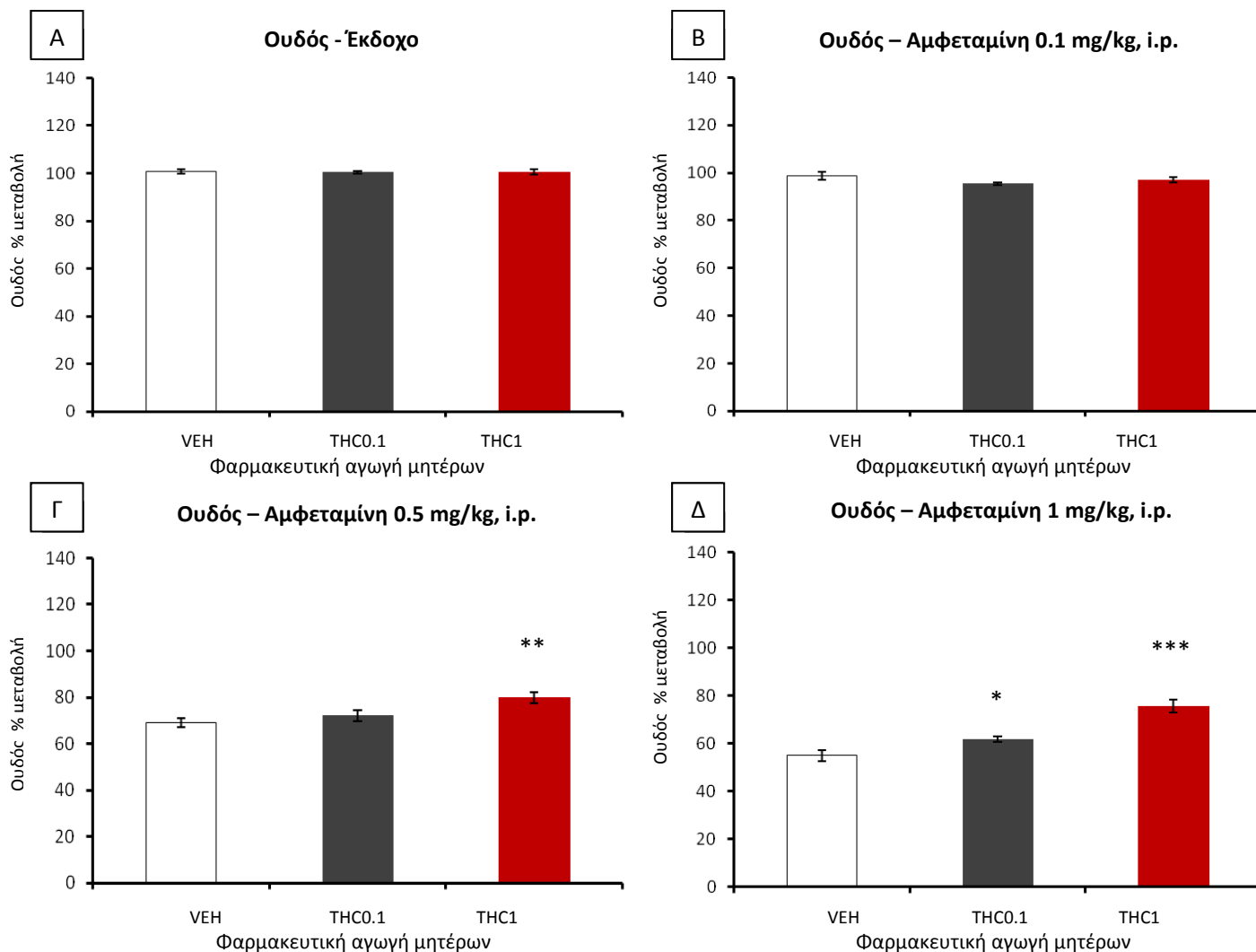
Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού και ειδικότερα αυτά που αφορούν τον ουδό και την ασύμπτωτο των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην εφηβεία τους σε έκδοχο, σε Δ^9 -THC0.1 και σε Δ^9 -THC1. Η απόκριση των F1 επίμυων σε επίπεδο ουδού και ασύμπτωτου, εξετάστηκε μετά τη χορήγηση τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν παρερμηνείες, πρέπει να τονίσουμε στο σημείο αυτό, ότι σε αντίθεση με τα πειράματα του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού που προαναφέρθηκαν και περιλάμβαναν τη χορήγηση Δ^9 -THC στους F1 επίμυες και λαμβάνονταν μετά δύο μετρήσεις, σε αυτά τα πειράματα που αφορούν στη χορήγηση αμφεταμίνης στους F1 επίμυες, λήφθηκε μόνο μία μέτρηση μετά την χορήγηση της εκάστοτε δόσης της αμφεταμίνης. Στην Εικόνα 11 παρουσιάζονται σχηματικά τα αποτελέσματα της μέτρησης του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, για τους F1 επίμυες, οι οποίοι έλαβαν τις τέσσερις δόσεις της αμφεταμίνης που προαναφέρθηκαν. Ακολούθως θα αναφερθούμε αναλυτικά στα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη στατιστική ανάλυση του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων που έλαβαν αμφεταμίνη.

Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), για το έκδοχο δεν κατέληξε σε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η χορήγηση του εκδόχου δεν επηρέασε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC [$F(2,21)=0.027$, $p=0.974$] (Εικόνα 11Α). Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και για τη δόση 0.1mg/kg, i.p., αφού η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), δεν έδειξε στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,21)=2.048$, $p=0.154$] (Εικόνα 11Β).

Αντίθετα η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) για τη δόση 0.5mg/kg, i.p., έδειξε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [$F(2,21)=6.275$, $p=0.007$]. Επιπλέον στατιστική ανάλυση με t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η δόση 0.1mg/kg, i.p., αύξησε τον ουδό στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων [$t(14)= -3.528$, $p=0.003$] σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, δηλαδή τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων, ενώ δεν παρατηρήθηκε κάποια αξιοσημείωτη αλλαγή στον ουδό των F1 επίμυων των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, όταν συγκρίθηκαν και αυτοί με την ομάδα ελέγχου [$t(14)= -1.009$, $p=0.330$] (Εικόνα 11Γ).

Τέλος όσον αφορά τη δόση 1mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης, αυτή επηρέασε τον ουδό των F1 επίμυων με στατιστικά σημαντικό τρόπο, όπως προέκυψε από την Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA) [$F(2,21)=25.888$, $p=0.000$]. Το t-test για ανεξάρτητα δείγματα έδειξε ότι η δόση 1mg/kg, i.p. της αμφεταμίνης, αύξησε τον ουδό ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (δηλαδή τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων)

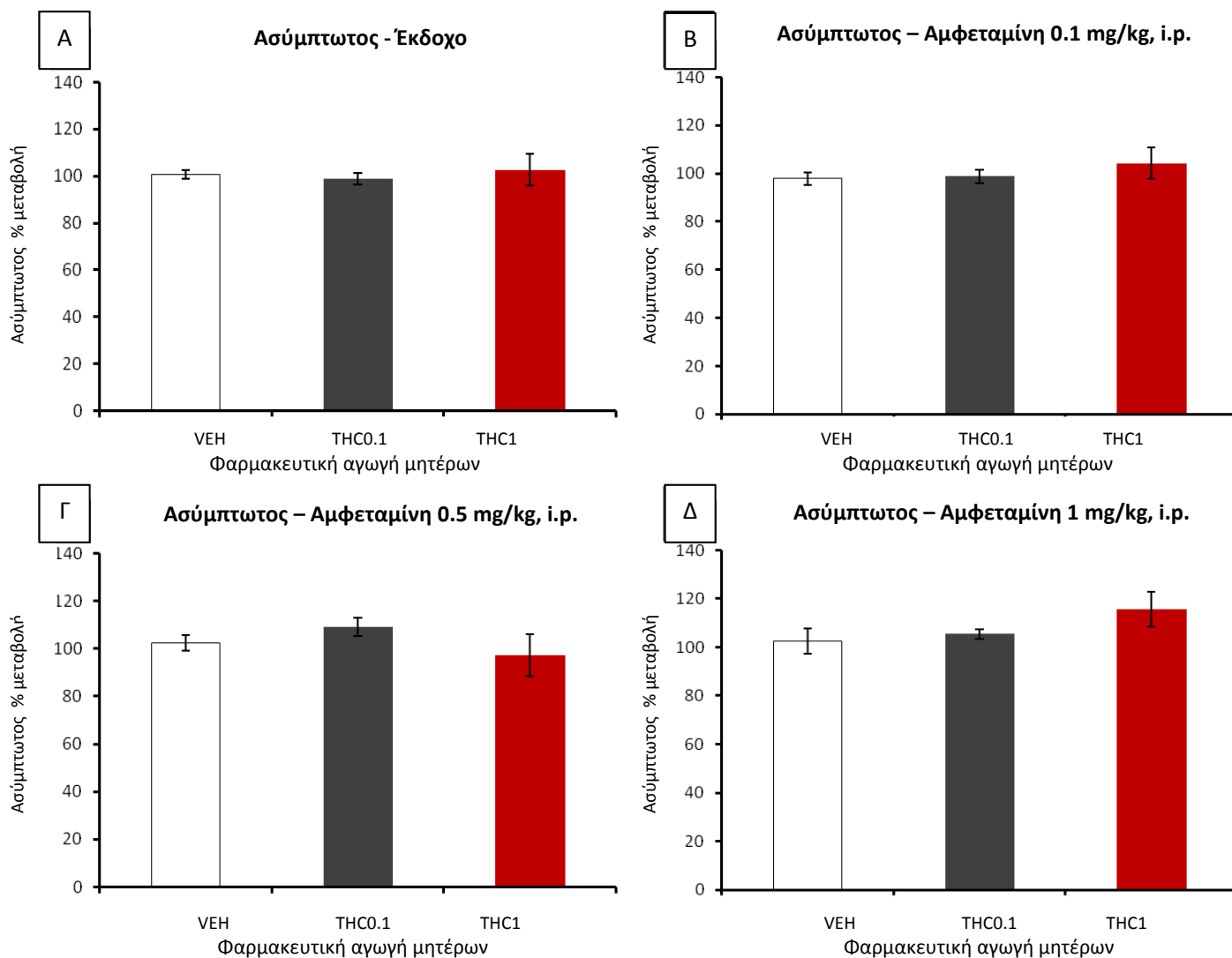
[$t(14) = -2.848, p = 0.013$], ενώ η αύξηση αυτή του ουδού ήταν ακόμα μεγαλύτερη για τους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων, όταν συγκρίθηκαν με την ομάδα ελέγχου (Εικόνα 11Δ).



Εικόνα 11. Ο ουδός του ενδοκρανιακού ερεθισμού των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ^9 -THC, μετά τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1mg/kg, i.p.). Οι κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο του ουδού του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ οι οριζόντιοι τις τρεις δόσεις της Δ^9 -THC (0, 0.1 και 1mg/kg, i.p), στις οποίες είχαν εκτεθεί οι μητέρες κατά την εφηβεία. Ο ένας αστερίσκος (*), αντιπροσωπεύει έναν ουδό σημαντικά διαφορετικό από τον ουδό της ομάδας ελέγχου δηλαδή των ουδών των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε έκδοχο κατά την εφηβεία τους, $p < 0.05$. Οι δύο αστερίσκοι (**), αντιπροσωπεύουν έναν ουδό σημαντικά διαφορετικό από αυτόν της ομάδας ελέγχου, $p < 0.01$, ενώ οι τρεις αστερίσκοι (***), αντιπροσωπεύουν έναν ουδό σημαντικά διαφορετικό από τον ουδό της ομάδας ελέγχου, $p < 0.001$. Α.Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση εκδόχου. Β.Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph0.1. Γ.Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph0.5. Δ.Ο ουδός των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph1.

Στην Εικόνα 12 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τη μέτρηση της ασύμπτωτου του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει στην εφηβεία τους Δ^9 -THC. Ακολούθως θα αναφερθούμε αναλυτικά στα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη στατιστική ανάλυση της ασύμπτωτου του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού των F1 επίμυων στους οποίους χορηγήθηκε αμφεταμίνη.

Η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης για το έκδοχο, δεν έδειξε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,21)=0.190$, $p=0.829$], γεγονός που σημαίνει ότι η χορήγηση του εκδόχου δεν επηρέασε την ασύμπτωτο των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (Εικόνα 12Α). Ανεπηρέαστη όπως φαίνεται, έμεινε και η ασύμπτωτος των F1 επίμυων από τη δόση Amph0.1, καθώς η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης δεν έδειξε κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων των F1 πειραματόζων [$t(2,21)=0.614$, $p=0.551$] (Εικόνα 12Β). Σε πλήρη συμφωνία με τα προηγούμενα αποτελέσματα, έρχονται και τα αποτελέσματα από τη μέτρηση της ασύμπτωτου των F1 πειραματόζων μετά την χορήγηση της δόσης Amph0.5, καθώς η Μονή Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA), δεν κατέληξε σε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,21)=1.045$, $p=0.369$] (Εικόνα 12Γ). Τέλος, ούτε από τη μέτρηση της ασύμπτωτου των F1 επίμυων μετά την χορήγηση της δόσης Amph1 υπήρξε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα [$F(2,21)=1.747$, $p=0.199$] (Εικόνα 12Δ).



Εικόνα 12. Η ασύμπτωτος του ενδοκρανιακού ερεθισμού των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε THC, μετά τη χορήγηση των τεσσάρων δόσεων της αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1 mg.kg, i.p). Οι κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τον μέσο όρο της ασύμπτωτος του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, ενώ οι οριζόντιοι τις τρεις δόσεις της Δ⁹- THC (VEH, Δ⁹-THC0.1 και Δ⁹-THC1), στις οποίες είχαν εκτεθεί οι μητέρες κατά την εφηβεία τους. Α. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση εκδόχου. Β. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph0.1. Γ. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph0.5. Δ. Η ασύμπτωτος των F1 επίμυων μετά τη χορήγηση Amph1.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τη μελέτη της κινητικής δραστηριότητας των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες εκτέθηκαν κατά την εφηβεία τους σε Δ^9 -THC (0, 0.1 και 1 mg/kg, i.p.) και οι οποίοι έλαβαν αργότερα τις τέσσερις δόσεις της Δ^9 -THC (0,0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.), παρατηρούμε την ύπαρξη διαγενεακών επιδράσεων.

Αρχικά όμως ας αναφερθούμε στα αποτελέσματα που προκύπτουν από την εξοικείωση (habituation) των πειραματόζωων και τη μελέτη της απόκρισής τους σε ένα νέο περιβάλλον (novelty). Όπως είδαμε και στο μέρος των αποτελεσμάτων οι F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί σε Δ^9 -THC0.1 και Δ^9 -THC1, δεν είχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ούτε στις μετακινήσεις τους, ούτε στις ανασηκώσεις τους σε επίπεδο εξοικείωσης, αν και υπάρχει μια τάση οι F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και οι F1 των F0- Δ^9 -THC1 να έχουν υψηλότερες μετακινήσεις σε σύγκριση με τους F1 των F0-VEH. Παρομοίως και κατά τη μελέτη της απόκρισης των πειραματόζωων σε ένα νέο περιβάλλον δεν παρατηρείται κάποια διαφορά μεταξύ των ομάδων, παρ' όλα αυτά όμως διαφαίνεται μία τάση για αυξημένη κινητικότητα στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και στους F1 των F0- Δ^9 -THC1. Χωρίς όμως την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων δεν μπορούμε να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα και άρα καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες κατά την εφηβεία τους σε δόσεις 0.1 και 1 mg/kg, δεν έχει καμία επίδραση στην εξοικείωση και στην αντίδραση των απογόνων τους σε ένα νέο περιβάλλον κατά τη διάρκεια της μελέτης της κινητικής τους δραστηριότητας.

Περνώντας τώρα στη μελέτη της κινητικότητας των επίμυων μετά από τη χορήγηση Δ^9 -THC, παρατηρούμε ότι η χορήγηση στους F1 επίμυες του εκδόχου της Δ^9 -THC (VEH), δεν επηρέασε την κινητικότητα των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1, αλλά και Δ^9 -THC1 κατά την εφηβεία τους, σε σύγκριση με τους F1 επίμυες, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο (VEH) της Δ^9 -THC κατά την εφηβεία τους. Κατά παρόμοιο τρόπο το έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH), δεν επηρέασε ούτε την εξερευνητική συμπεριφορά των F1 πειραματόζωων, αφού οι ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1 και Δ^9 -THC1, δεν διέφεραν καθόλου ουσιαστικά από τις ανασηκώσεις των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει κατά την εφηβεία τους έκδοχο (VEH) της Δ^9 -THC. Από την άλλη πλευρά όταν χορηγήθηκε στους F1 επίμυες η δόση Δ^9 -THC0.1, παρατηρήθηκε αύξηση της κινητικότητας τους τόσο για αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1, όσο και σε αυτούς που οι μητέρες τους είχαν λάβει Δ^9 -THC1. Μάλιστα κοιτάζοντας προσεκτικότερα τα αποτελέσματα, παρατηρούμε ότι η αύξηση των μετακινήσεων, είναι ακόμα μεγαλύτερη στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες, είχαν λάβει Δ^9 -THC1. Όμοιες αλλαγές παρατηρήθηκαν και σε επίπεδο εξερευνητικής συμπεριφοράς, μόνο που εδώ φαίνεται πως η Δ^9 -THC0.1 αύξησε σε μεγαλύτερο βαθμό τις ανασηκώσεις των F1 επίμυων των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1 σε σχέση με αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1 καθώς και σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων).

Από την άλλη πλευρά η δόση Δ^9 -THC0.5, αύξησε τις μετακινήσεις και τις ανασηκώσεις με στατιστικά σημαντικό τρόπο, μόνο στην ομάδα των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1 σε σχέση με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων. Η Δ^9 -THC0.5, αύξησε και σε μικρότερο βαθμό τις μετακινήσεις και τις ανασηκώσεις στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, όμως η αύξηση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Κάτι ανάλογο συνέβη και με τη δόση Δ^9 -THC1, η οποία αύξησε με στατιστικά σημαντικό τρόπο τις μετακινήσεις και τις ανασηκώσεις των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1 κατά την εφηβεία τους, ενώ η μικρότερη αύξηση που παρατηρήθηκε στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Τα ευρήματα για την πρόκληση υπερκινητικότητας στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 και των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων, μετά τη χορήγηση σε αυτούς της δόσης 0.1mg/kg της Δ^9 -THC, συμφωνούν με τα ευρήματα της έρευνας των Katsidoni και συν. (2013), όπου η Δ^9 -THC σε δόση 0.1 mg/kg προκάλεσε σε αρσενικούς επίμυες υπερκινητικότητα. Το ενδιαφέρον στο σημείο αυτό είναι ότι στην έρευνα των Katsidoni και συν. (2013), οι μητέρες των αρσενικών επίμυων δεν είχαν ακολουθήσει παρόμοιο πειραματικό χειρισμό με τις παρούσες, αφού δεν είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους σε οποιαδήποτε δόση της Δ^9 -THC. Άρα μέχρι το σημείο αυτό γίνεται κατανοητό ότι με τη δόση 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC δεν ελέγχουμε κάποιο ιδιαίτερο αποτέλεσμα. Με άλλα λόγια δεν παρατηρείται κάποια διαγενεακή επίδραση, αφού τα ευρήματά μας συμφωνούν με τα ευρήματα άλλης μελέτης, οι οποίοι δεν ακολουθούν τον πειραματικό πρότυπο της διαγενεακής επιγενετικής κληρονομικότητας.

Αντίθετα, παρατηρήθηκε όπως προαναφέραμε αύξηση των μετακινήσεων και των ανασηκώσεων των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1, μετά την χορήγηση 0.5 mg/kg της Δ^9 -THC, όταν συγκρίθηκαν με την κινητική δραστηριότητα των F1 επίμυων της ομάδας ελέγχου (F1 των F0-VEH μητέρων). Τα ευρήματα αυτά ωστόσο, έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της μελέτης των Jarbe, Andrzejewski και Di Patrizio (2002), όπου βρέθηκαν ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε ένα εύρος δόσεων 0.3-5.6 mg/kg σε επίμυες Spargue Dawley, κατέστειλε-μείωσε τόσο τις μετακινήσεις των πειραματόζωων, όσο και τις ανασηκώσεις τους. Παράλληλα τα ευρήματά μας σχετικά με τις δράσεις της δόσης 0.5 mg/kg της Δ^9 -THC, έρχονται σε αντίθεση και με τα ευρήματα από την έρευνα των Smirnov και Kiyatkin (2008), όπου αναφέρουν ότι η δόση 0.5 mg/kg της Δ^9 -THC προκαλεί μείωση της κινητικής δραστηριότητας των πειραματόζωων και η μείωση αυτή παρατηρείται τόσο σε επίπεδο μετακινήσεων, όσο και σε επίπεδο ανασηκώσεων. Τα διαφορετικά ευρήματα σχετικά με τις δράσεις της Δ^9 -THC0.5, μπορεί να μεταφραστούν ως διαγενεακή επίδραση, η οποία οφείλεται στην Δ^9 -THC που είχε χορηγηθεί στις μητέρες των F1 επίμυων κατά την εφηβεία τους και η οποία ενεργοποιήθηκε με τη χορήγηση στους F1 επίμυες της δόσης 0.5 mg/kg, έτσι σε αντίθεση με αυτό που θα περίμενε κανείς με βάση τα υπάρχοντα ερευνητικά δεδομένα, να προκληθεί

υποκινητικότητα στους επίμυες, παρουσιάστηκε αύξηση της κινητικής δραστηριότητας και της εξερευνητικής τους συμπεριφοράς.

Συνεχίζοντας η δόση 1 mg/kg της Δ^9 -THC, αύξησε με στατιστικά σημαντικό τρόπο όπως είδαμε τις μετακινήσεις και τις ανασηκώσεις μόνο στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων σε σύγκριση πάντα με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων, ενώ για την ομάδα των επίμυων των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, η αύξηση αυτή ήταν μικρότερη και παράλληλα μη σημαντική. Τα ευρήματα αυτά έρχονται δεν συμφωνούν με τα ευρήματα της μελέτης των Katsidoni και συν. (2013), όπου η δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC προκάλεσε υποκινητικότητα στα πειραματόζωα. Με βάση αυτά τα διαφορετικά αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε, ότι στην παρούσα έρευνα η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες στη δόση 1 mg/kg, μπορεί να έχει διαγενεακές επιδράσεις στην κινητικότητα, οι οποίες γίνονται εμφανείς στους F1 απογόνους με την ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση σε αυτούς 1 mg/kg της Δ^9 -THC.

Όπως είδαμε εκτενώς και στην εισαγωγή, τα βασικά γάγγλια είναι η εγκεφαλική δομή που ευθύνεται για τον έλεγχο της κίνησης, λαμβάνοντας πληροφορίες από τον εγκεφαλικό φλοιό και στέλνοντάς τις πάλι πίσω σε αυτόν, αφού υποστούν επεξεργασία από το θάλαμο (Παναγής, 2010). Σύμφωνα με τους van der Stelt και Di Marzo (2003), τα βασικά γάγγλια χωρίζονται σε δύο οδούς μία άμεση και μία έμμεση. Στην άμεση οδό οι νευρώνες του ραβδωτού στέλνουν τις GABAεργικές προβολές τους στη μέλαινα ουσία και στην ωχρά σφαίρα, ενώ ο θάλαμος δέχεται τον ανασταλτικό έλεγχο αυτών των δύο περιοχών. Από την άλλη πλευρά στην έμμεση οδό οι νευρώνες του ραβδωτού, στέλνουν τις GABAεργικές προβολές τους αρχικά στην έξω μοίρα της ωχράς σφαίρας, η οποία με τη σειρά της ασκεί ανασταλτικό έλεγχο στον υποθαλάμιο πυρήνα, στέλνοντας σε αυτούς GABAεργικές προβολές. Παρών στις περισσότερες περιοχές των βασικών γαγγλίων συναντάμε τον CB1υποδοχέα των κανναβινοειδών ο οποίος ρυθμίζει την νευροδιαβίβαση στην άμεση οδό μέσω της επίδρασης του στον D1 υποδοχέα της ντοπαμίνης και στην έμμεση οδό επιδρώντας στον D2 υποδοχέα της ντοπαμίνης (der Stelt & Di Marzo, 2003).

Οι van der Stelt και Di Marzo (2003), προτείνουν ένα μηχανισμό, ο οποίος εξηγεί την ιδιότητα της Δ^9 -THC αλλά και των αγωνιστών της, να προκαλεί αύξηση της κινητικότητας-υπερκινητικότητα σε μικρές δόσεις και μείωση της κινητικότητας-υποκινητικότητα σε μεγάλες δόσεις. Σύμφωνα λοιπόν με τους van der Stelt και Di Marzo (2003), η ανασταλτική επίδραση στην έμμεση οδό, μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ενεργοποίηση της μέλαινας ουσίας και κατ' επέκταση σε μείωση της ανασταλτικής επίδρασης που ασκεί στους πυρήνες με τους οποίους συνδέεται, γεγονός που μεταφράζεται σε αύξηση της κινητικής δραστηριότητας. Αντιθέτως, η ανασταλτική επίδραση στην άμεση οδό, μπορεί να οδηγήσει σε έμμεση ενεργοποίηση της μέλαινας ουσίας και κατ' επέκταση αύξηση στον ανασταλτικό έλεγχο που αυτή ασκεί σε διάφορους πυρήνες, γεγονός που μεταφράζεται σε μείωση-καταστολή της κινητικότητας. Ωστόσο, το ερώτημα που τίθεται στο σημείο αυτό είναι με

ποιον ακριβώς μηχανισμό μπορεί να ασκηθεί ανασταλτική επίδραση στην άμεση και στην έμμεση οδό. Οι Gerdeman και Lovinger (2001), έχουν δώσει μια απάντηση σε αυτό το ερώτημα. Πιο συγκεκριμένα υποστηρίζουν ότι οι διεγερτικές φλοιικές-ραβδωτές περιοχές περιέχουν προσυναπτικούς υποδοχείς των κανναβινοειδών και η ενεργοποίησή τους οδηγεί σε μείωση της απελευθέρωσης γλουταμινικού. Εφόσον λοιπόν οι μεσομεταιχμιακές προβολές συγκλίνουν σε GABAεργικούς νευρώνες, οι οποίοι προβάλλουν τόσο στην άμεση, όσο και στην έμμεση οδό, γίνεται κατανοητό ότι μπορεί να ασκηθεί ανασταλτικός έλεγχος και στις δύο οδούς. Πιο συγκεκριμένα οι Gerdeman και Lovinger έλεγξαν το ραχιαίο έξω ραβδωτό σε επίμυες με αυξημένη έκφραση των CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων των κανναβινοειδών, οδηγεί σε μείωση της απελευθέρωσης γλουταμινικού σε περιοχές του ραβδωτού. Με τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν και οι Huang, Lo και Hsu (2001), οι οποίοι αναφέρουν στην έρευνά τους ότι τα κανναβινοειδή καταστέλλουν την φλοιοραβδωτή γλουταμινεργική διαβίβαση, μέσω της ενεργοποίησης των προσυναπτικών CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών, οι οποίοι μειώνουν τη δραστηριότητα των διαύλων ασβεστίου και αυτοί με τη σειρά τους μειώνουν την απελευθέρωση του γλουταμινικού. Ανακεφαλαιώνοντας, από τα παραπάνω ευρήματα γίνεται κατανοητό ότι τα κανναβινοειδή, μέσω των υποδοχέων CB1 των κανναβινοειδών, είναι σε θέση να ρυθμίσουν τη λειτουργία του ραβδωτού και κατ' επέκταση να επηρεάσουν τις περιοχές που συνδέονται με τα βασικά γάγγλια και κατ' επέκταση την κινητικότητα του εκάστοτε οργανισμού.

Με βάση τα παραπάνω, αλλά και λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα από την κινητικότητα των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC και οι οποίοι αργότερα έλαβαν τις τέσσερις δόσεις της Δ^9 -THC που αναφέρονται πιο πάνω θα μπορούσε κάποιος να αναρωτηθεί γιατί τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος δε συμφωνούν με τα υπάρχοντα ευρήματα, σύμφωνα με τα οποία οι μικρές δόσεις της Δ^9 -THC προκαλούν υπερκινητικότητα και οι μεγάλες δόσεις υποκινητικότητα. Πριν όμως περάσουμε στην εξήγηση των αποτελεσμάτων από τις τρεις δόσεις της Δ^9 -THC (0.1, 0.5 και 1mg/kg), πρέπει να τονίσουμε στο σημείο αυτό ότι η χορήγηση του εκδόχου της THC στους F1 επίμυες, των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί είτε στην Δ^9 -THC0.1, είτε στην Δ^9 -THC1, δεν είχε καμία επίδραση στην κινητικότητά τους, ούτε στην εξερευνητική συμπεριφορά τους, εύρημα το οποίο επαλήθευσε τις υποθέσεις μας, δεδομένου ότι το έκδοχο αποτελεί μια αδρανή ουσία, η οποία δεν έχει καμία φαρμακολογική δράση. Ακολουθώντας, παρατηρούμε ότι η δόση 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC προκάλεσε αύξηση της κινητικότητας στους F1 των F0- Δ^9 -THC0.1 και ακόμα μεγαλύτερη αύξηση στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων. Η δόση 0.5 mg/kg της Δ^9 -THC αύξησε την κινητικότητα στους F1 των F0- Δ^9 -THC1 και παρομοίως η δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC, αύξησε την κινητικότητα στους F1 των F0- Δ^9 -THC1. Παρατηρούμε δηλαδή ότι η χορήγηση σε θηλυκούς επίμυες κατά την εφηβεία τους σε δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC προκαλεί διαγενεακές επιδράσεις, οι οποίες εμφανίζονται με την αντιστροφή της επίδρασης των δόσεων 0.5 mg/kg και 1mg/kg της Δ^9 -THC στους F1 αρσενικούς απογόνους αυτών των θηλυκών, οι οποίες αντί να προκαλούν υποκινητικότητα στους

επίμυες, προκαλούν αύξηση της κινητικής τους δραστηριότητας. Μία πιθανή εξήγηση για την παραπάνω διαφορά που εντοπίζεται ανάμεσα στην συγκεκριμένη έρευνα και στις άλλες έρευνες για τις επιδράσεις των χαμηλών και των υψηλών δόσεων της Δ^9 -THC στην κινητική συμπεριφορά των πειραματόζωων, είναι ότι η χρόνια έκθεση των F0 μητέρων στην Δ^9 -THC και πιο συγκεκριμένα στη δόση 1mg/kg της Δ^9 -THC άλλαξε την συναπτική πλαστικότητα του ραβδωτού των F1 επίμυων και αυτή η αλλαγή στη συναπτική πλαστικότητα των F1 επίμυων είναι υπεύθυνη για την αντίστροφη επίδραση των δύο μεγάλων δόσεων της Δ^9 -THC (0.5 και 1 mg/kg) στην κινητική συμπεριφορά των F1 πειραματόζωων. Εξάλλου η παραπάνω υπόθεση επιβεβαιώνεται από μια πρόσφατη έρευνα. Στην έρευνα αυτή οι Szutorisz και συν. (2014), αναφέρουν ότι η έκθεση στην Δ^9 -THC θηλυκών και αρσενικών επίμυων, οι οποίοι έπειτα ζευγαρώνουν μεταξύ τους, επιδρά, αλλάζοντας την συναπτική πλαστικότητα των F1 αρσενικών απογόνων τους, τόσο στο ραχιαίο ραβδωτό, όσο και στο κοιλιακό ραβδωτό (επικλινής πυρήνας). Και οι δύο περιοχές μαζί (ραβδωτό), παίζουν όπως είδαμε σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της κίνησης ενώ ειδικά για τον επικλινή πυρήνα (κοιλιακό ραβδωτό), έχει βρεθεί ότι η έγχυση στο κέλυφος του επικλινή πυρήνα μικροποσοτήτων Δ^9 -THC, αυξάνει την κινητικότητα στα πειραματόζωα (Zangen, Solinas, Ikemoto, Goldberg & Wise, 2006).

Ας περάσουμε όμως τώρα στα αποτελέσματα που προκύπτουν από την χορήγηση στους F1 επίμυες αμφεταμίνης. Το έκδοχο της αμφεταμίνης δεν προκάλεσε καμία επίδραση στην κινητικότητα των F1 επίμυων, των οποίων οι F0 μητέρες είχαν εκτεθεί στην Δ^9 -THC (0.1 και 1), εύρημα το οποίο επαλήθευσε τις προσδοκίες μας δεδομένου ότι πρόκειται για μια αδρανή φαρμακολογικά ουσία. Επιπλέον οι υπόλοιπες δόσεις της αμφεταμίνης (0.1, 0.5 και 1 mg/kg) που χορηγήθηκαν στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (0.1 και 1), δεν είχαν κάποια στατιστικά σημαντική επίδραση στην κινητικότητά τους, ούτε στην εξερευνητική συμπεριφορά τους (ανασηκώσεις), σε σύγκριση με την κινητικότητα και την εξερευνητική συμπεριφορά των F1 επίμυων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει VEH της Δ^9 -THC. Παρά όμως την ύπαρξη μη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων, εάν κοιτάξει κανείς προσεκτικά τα αποτελέσματα θα παρατηρήσει ότι η δόση 0.1 mg/kg της αμφεταμίνης, έχει μια μικρή τάση να προκαλεί αύξηση της κινητικότητας στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων και στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τα υπάρχοντα έως τώρα ερευνητικά δεδομένα, η αμφεταμίνη να προκαλεί μια δοσοεξαρτώμενη αύξηση της κινητικότητας των πειραματόζωων, όπου όσο αυξάνεται η δόση της αμφεταμίνης, αυξάνεται αντίστοιχα και η κινητικότητα του πειραματόζωου (Sharp και συν., 1987). Με το παραπάνω εύρημα όμως έρχεται σε αντίθεση η δράση της δόσης 0.5 mg/kg της αμφεταμίνης, η οποία χορηγούμενη στους F1 επίμυες, αντί να τους προκαλέσει αύξηση της κινητικότητας, όπως θα περίμενε κανείς, προκάλεσε στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων μείωση της κινητικότητάς τους και ακόμα μεγαλύτερη μείωση προκάλεσε στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων. Ακολούθως η δόση 1mg/kg της αμφεταμίνης προκάλεσε παρόμοια μείωση της κινητικότητας στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 και F0- Δ^9 -THC1 μητέρων.

Πιθανότατα αυτές οι δράσεις της αμφεταμίνης να δέχονται παρόμοια εξήγηση με αυτή των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από τη χορήγηση της Δ^9 -THC. Εάν μάλιστα λάβει κανείς υπόψη ότι στην περιοχή των βασικών γαγγλίων και ιδιαίτερα του ραβδωτού, που όπως είδαμε παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της κινητικότητας μέσω των CB1 υποδοχέων των κανναβινοειδών, υπάρχει και πλήθος ντοπαμινεργικών υποδοχέων στους οποίους η αμφεταμίνη δρα ως αγωνιστής, ρυθμίζοντας την κινητική συμπεριφορά (Kropf & Kuschinsky, 1994). Επιπλέον όπως είδαμε και στην εισαγωγή της εργασίας, αρκετές είναι οι έρευνες που υποστηρίζουν την νευρωνική σύνδεση των κυκλωμάτων των ενδοκανναβινοειδών με τη ρύθμιση των διεγερτικών κινητικών ιδιοτήτων της αμφεταμίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Thierman και συν., 2008· Masserano και συν., 1999). Ωστόσο χωρίς την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων για την αμφεταμίνη, με μόνη ένδειξη μικρές μειώσεις στην κινητικότητα των F1 επίμυων από τις δόσεις 0.5 και 1mg/kg της αμφεταμίνης, δεν μπορούμε να μιλήσουμε με ασφάλεια και σιγουριά για την ύπαρξη διαγενεακών επιδράσεων, οι οποίες ενδεχομένως φαίνονται από τη χορήγηση της αμφεταμίνης σε δόσεις 0.5 και 1mg/kg.

Ας περάσουμε όμως τώρα στην συζήτηση των αποτελεσμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού, των F1 πειραματόζωων που έλαβαν Δ^9 -THC. Αρχικά θα αναφερθούμε στα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη της εκπαίδευσης των F1 πειραματόζωων στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Ούτε από την μελέτη των προειδοποιητικών ερεθισμάτων χορηγούμενων από τον πειραματιστή, ούτε από τη μελέτη του χρόνου που χρειάστηκαν τα πειραματόζωα για να μάθουν τη διαδικασία (minutes), προκύπτει κάποια σημαντική διαφορά, ωστόσο και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις διαφαίνεται μια τάση των F1 επίμυων των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (0.1 και 1), να χρειάζονται περισσότερα προειδοποιητικά ερεθίσματα χορηγούμενα από τον πειραματιστή και πιο αυξημένο χρόνο, συγκρινόμενοι με τους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH). Κατά παρόμοιο τρόπο οι τρεις άλλες παράμετροι της εκπαίδευσης που μελετήθηκαν, δηλαδή η συχνότητα στην οποία εκπαιδεύτηκαν, αλλά και ο ουδός και η ασύμπτωτος μετά την σταθεροποίηση του προγράμματος μεταβαλλόμενων συχνοτήτων, δεν παρουσίασαν κάποια σημαντική διαφορά ανάμεσα στους επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (0.1 και 1) και αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει VEH της Δ^9 -THC. Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό, ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες, δεν έχει καμία επίδραση στις διάφορες παραμέτρους της εκπαίδευσης των μελλοντικών τους απογόνων, οι οποίοι εξετάστηκαν για την αντίδραση τους σε ουσίες με ενισχυτική δράση με τη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Αρχικά το έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH), όταν χορηγήθηκε στους F1 επίμυες, των οποίων οι μητέρες, είχαν λάβει κατά την εφηβεία τους Δ^9 -THC (0.1 και 1mg/kg), δεν είχε καμία επίδραση στον ουδό τους σε σύγκριση με τον ουδό των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο (VEH) της Δ^9 -THC. Κατά παρόμοιο τρόπο οι δόσεις 0.5 και 1 mg/kg της Δ^9 -THC, όταν

χορηγήθηκαν στους επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC, δεν είχαν καμία στατιστικά σημαντική επίδραση στον ουδό τους συγκρινόμενοι με τον ουδό των F1 πειραματόζωων, των οποίων οι μητέρες είχαν δεχθεί κατά την εφηβεία τους έκδοχο (VEH) της Δ^9 -THC.

Από την άλλη πλευρά η χορήγηση 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC στους F1 επίμυες αύξησε τον ουδό τόσο στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, όσο και στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων σε σχέση με τον ουδό των F1 επίμυων των F0-VEH μητέρων. Μάλιστα η αύξηση του ουδού ήταν μεγαλύτερη στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC 0.1 μητέρων σε σχέση με τον ουδό των F1 επίμυων των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων. Πρέπει επίσης να αναφέρουμε ότι οι αυξήσεις στον ουδό των F1 επίμυων των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (0.1 και 1), παρατηρήθηκαν τόσο κατά την πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC 0.1, όσο και κατά τη δεύτερη μέτρηση μετά τη χορήγηση της Δ^9 -THC 0.1, ενώ τόσο στους F1 των F0- Δ^9 -THC 0.1, όσο και στους F1 των F0- Δ^9 -THC1, οι αυξήσεις που παρατηρήθηκαν στον ουδό, ήταν μεγαλύτερες κατά τη δεύτερη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC 0.1, σε σχέση με την πρώτη μέτρηση μετά την χορήγηση της Δ^9 -THC 0.1. Με άλλα λόγια η χορήγηση της Δ^9 -THC 0.1 στους F1 επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC (0.1 και 1), μετατόπισε την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/ αντιδράσεων προς τα δεξιά, προκαλώντας αύξηση του ουδού και κατ' επέκταση ανηδονία στου F1 επίμυες.

Τα ευρήματα αυτά έρχονται σε σύγκρουση με τα ευρήματα άλλων ερευνών, που υποστηρίζουν ότι η χορήγηση της Δ^9 -THC σε δόση 0.1 mg/kg σε αρσενικούς Spargue Dawley επίμυες, προκαλεί μείωση του ουδού μετατοπίζοντας την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού αντιδράσεων προς τα αριστερά, γεγονός που μεταφράζεται στο ότι η δόση 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC, έχει ενισχυτική δράση στα πειραματόζωα (Katsidoni και συν., 2013). Αναλυτικότερα το γεγονός ότι η χορήγηση της Δ^9 -THC σε έφηβους θηλυκούς επίμυες, αναστέλλει στους αρσενικούς F1 απογόνους τους, τις ενισχυτικές δράσεις που έχει η χορήγηση σε αυτούς της Δ^9 -THC σε δόση 0.1 mg/kg, μπορεί να σχετίζεται με διαγενεακές επιδράσεις που οφείλονται στην έκθεση των θηλυκών σε Δ^9 -THC κατά την εφηβεία τους. Πιθανότατα η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες κατά τη διάρκεια της εφηβείας τους, προκάλεσε σε αυτούς κάποιες επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες πέρασαν μέσω της βλαστικής σειράς αυτών των θηλυκών στους απογόνους τους (Skinner, 2011). Όταν στους απογόνους λοιπόν χορηγήθηκε Δ^9 -THC σε δόση 0.1 mg/kg, εμφανίστηκαν αυτές οι διαγενεακές επιδράσεις, ως καταστολή των ενισχυτικών ιδιοτήτων της Δ^9 -THC0.1, όπως φάνηκε χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού.

Το ερώτημα που τίθεται όμως στο σημείο αυτό είναι πια εγκεφαλική περιοχή είναι υπεύθυνη για τα παραπάνω αποτελέσματα και με ποιον ακριβώς μηχανισμό αναστέλλεται στους F1 επίμυες η ενισχυτική δράση της Δ^9 -THC0.1. Όπως είδαμε και στο τμήμα των μεθόδων στη συγκεκριμένη έρευνα, η εμφύτευση των ηλεκτροδίων στους F1 επίμυες πραγματοποιήθηκε στην περιοχή του έξω υποθαλάμου, μιας περιοχής, η οποία αποτελεί μέρος της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας. Ηλεκτρικός ή

χημικός ερεθισμός της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας, μπορεί να προκαλέσει στα πειραματόζωα ενίσχυση και αισθήματα ευφορίας (Wise, 1996). Εξάλλου το κύκλωμα ανταμοιβής-ενίσχυσης του εγκεφάλου αποτελείται από περιοχές όπως ο επικλινή πυρήνας και το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους μέσω της έσω τηλεγκεφαλικής δεσμίδας (Wise, 1996). Τα κανναβινοειδή, τόσο τα ενδογενή, όσο και τα εξωγενώς χορηγούμενα, όπως η Δ^9 -THC, έχει δείχθει ότι είναι σε θέση να αυξάνουν την ντοπαμινεργική δραστηριότητα στο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και κατ' επέκταση στον επικλινή πυρήνα, όπως συμβαίνει και με άλλες εθιστικές ουσίες (Gardner & Vorel, 1998). Ωστόσο τα κανναβινοειδή δεν επιδρούν απευθείας πάνω στην ντοπαμίνη αλλά με έναν πιο έμμεσο τρόπο. Ειδικότερα στον επικλινή πυρήνα τα κανναβινοειδή ρυθμίζουν την GABAεργική και γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση, ασκώντας ανασταλτικό έλεγχο σε αυτές (Manzon & Bockaert, 2001). Οι Zangen και συν. (2006), εξειδικεύουν ακόμα περισσότερο την έρευνά τους, υποστηρίζοντας ότι στις ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC, εμπλέκονται το οπίσθιο κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και το κέλυφος του επικλινή πυρήνα. Πιο συγκεκριμένα αναφέρουν ότι μικροεγγύσεις σε αυτές τις δύο περιοχές με Δ^9 -THC, οδηγούν τους επίμυες να πιέζουν ένα μοχλό προκειμένου να αυτοχορηγήσουν Δ^9 -THC.

Από τα παραπάνω γίνεται λοιπόν κατανοητό ότι το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και ο επικλινή πυρήνας, αποτελούν δύο περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής του εγκεφάλου, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη ρύθμιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της Δ^9 -THC. Ωστόσο, με τα όσα είδαμε μέχρι τώρα δεν έχουμε δώσει απάντηση στο ερωτημά για το ποιος μηχανισμός κρύβεται πίσω από την αναστολή της ενισχυτικής δράσης της δόσης 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC, των οποίων οι μητέρες είχαν κατά την εφηβεία τους εκτεθεί σε Δ^9 -THC. Ένας πιθανός μηχανισμός που μπορεί να εξηγήσει το παραπάνω εύρημα θα μπορούσε να είναι οι διάφορες νευροπροσαρμογές που προκλήθηκαν στα αρσενικά από τη χρόνια χρήση της Δ^9 -THC, που έκαναν οι μητέρες τους κατά την εφηβεία τους, εύρημα το οποίο όπως είδαμε παραπάνω επιβεβαιώνεται και από την έρευνα των Szutorisz και συν. (2014), οι οποίοι αναφέρουν ότι το ιστορικό κατάχρησης Δ^9 -THC από έφηβους αρσενικούς και θηλυκούς επίμυες, προκαλεί αργότερα στους απογόνους τους την εμφάνιση πλαστικών αλλαγών στο ραβδωτό. Εξάλλου τα κανναβινοειδή εμπλέκονται και σε μηχανισμούς συναπτικής πλαστικότητας στο κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου. Οι Heiferts και Castillo (2009) αναφέρουν ότι η χρόνια χρήση Δ^9 -THC, μπορεί να προκαλέσει ένα φαινόμενο, το οποίο ονομάζεται μακροπρόθεσμη καταστολή (LTD, κατά το οποίο η συναπτική επικοινωνία γίνεται πιο αδύναμη), το οποίο μέσα από μια σειρά γεγονότων μπορεί να προκαλέσει μείωση της απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή που απελευθερώνεται από το κύτταρο, στην προκειμένη περίπτωση της ντοπαμίνης, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο τις ενισχυτικές ιδιότητες της χορηγούμενης ουσίας (στην περίπτωσή μας πρόκειται για τη μείωση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της Δ^9 -THC0.1). Τα παραπάνω ευρήματα για την πρόκληση πλαστικών αλλαγών από τη χρόνια χρήση της Δ^9 -THC, επιβεβαιώνονται και από την έρευνα των Robbe, Kopf, Remaury, Rackaert και Manzoni (2002), σύμφωνα με τους οποίους η μακροπρόθεσμη

καταστολή που προκαλείται από την χρόνια χορήγηση της Δ^9 -THC, μπλοκάρεται από την χορήγηση ανταγωνιστών του CB1 υποδοχέα των κανναβινοειδών στον επικλινή πυρήνα και δεν παρατηρείται καθόλου σε knock out ποντίκια για τον υποδοχέα CB1 των κανναβινοειδών, ενώ τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνονται και από την έρευνα των Spiga, Lintas και Diana (2011), οι οποίοι αναφέρουν στην έρευνά τους την εμφάνιση αλλαγών στο μεσομεταιχμιακό σύστημα στην εξάρτηση από την Δ^9 -THC.

Συνοψίζοντας γίνεται κατανοητό ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες κατά την εφηβεία τους, προκαλεί κάποιες επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες μέσω της βλαστικής σειράς περνούν στους απογόνους τους, προκαλώντας τους πλαστικές αλλαγές σε περιοχές του συστήματος ανταμοιβής του εγκεφάλου. Αυτές οι αλλαγές που προκαλούνται σε περιοχές όπως ο επικλινής πυρήνας, αλλάζουν ή πιο σωστά καταργούν στους F1 απογόνους των θηλυκών τις ενισχυτικές-ευφορικές ιδιότητες της δόσης 0.1 mg/kg της Δ^9 -THC, όπως φαίνεται από την άνοδο του ουδού μετά την χορήγηση στους επίμυες της Δ^9 -THC0.1.

Ας περάσουμε όμως τώρα στην ανάλυση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν από την χορήγηση στους F1 επίμυες, αμφεταμίνης (0, 0.1, 0.5 και 1 mg/kg, i.p.). Αρχικά παρατηρούμε ότι η χορήγηση στους F1 επίμυες του εκδόχου της αμφεταμίνης, δεν είχε καμία επίδραση στην κινητικότητα ούτε σε αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1, ούτε και σε αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους στην Δ^9 -THC1, σε σύγκριση με αυτούς των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει έκδοχο της Δ^9 -THC (VEH). Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα και για τη δόση 0.1 της αμφεταμίνης, η χορήγηση της οποίας δεν έδειξε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τρεις ομάδες των F1 επίμυων.

Από την άλλη πλευρά όμως η χορήγηση της αμφεταμίνης σε δόση 0.5 mg/kg, προκάλεσε στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων άνοδο του ουδού τους, σε σύγκριση με τον ουδό των F1 επίμυων των F0-VEH μητέρων, γεγονός που σημαίνει ότι προκάλεσε ανηδονία στα πειραματόζωα. Μικρότερη αλλά όχι στατιστικά σημαντική άνοδος του ουδού παρατηρήθηκε και στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων όταν συγκρίθηκαν με τους F1 επίμυες των F0-VEH μητέρων. Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκαν και τα αποτελέσματα από τη χορήγηση στους F1 επίμυες αμφεταμίνης σε δόση 1 mg/kg, αφού αυτή αύξησε τον ουδό τόσο στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC0.1 μητέρων, όσο και στους F1 επίμυες των F0- Δ^9 -THC1 μητέρων. Μάλιστα η αύξηση αυτή στον ουδό ήταν μεγαλύτερη στους επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC1, σε σχέση με τους επίμυες των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει Δ^9 -THC0.1. Τα παραπάνω ευρήματα για την ανηδονική δράση της αμφεταμίνης σε δόσεις 0.5 και 1 mg/kg, έρχονται σε αντίθεση με τα υπάρχοντα έως τώρα δεδομένα που υποστηρίζουν την ηδονική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό. Για παράδειγμα, όπως είδαμε και στην εισαγωγή, οι Bauer και συν. (2013) αναφέρουν στην έρευνά τους ότι η αμφεταμίνη σε δόσεις 0,32 mg/kg, 0,1mg/kg και 1mg/kg, παρουσίασε ηδονική δράση,

μειώνοντας τον ουδό, μετατοπίζοντας δηλαδή την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/ αντιδράσεων προς τα αριστερά, σε σχέση με την επίδραση του εκδόχου, ενώ παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Esposito και συν. (1980), οι οποίοι αναφέρουν ότι η αμφεταμίνη σε δόσεις 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1mg/kg και 2mg/kg, μετατόπισε την καμπύλη συχνότητας ερεθισμού/αντιδράσεων προς τα αριστερά, μειώνοντας τον ουδό, γεγονός που υποδηλώνει την ενισχυτική της δράση.

Η παραπάνω διαφορά που παρατηρείται ανάμεσα στη συγκεκριμένη έρευνα που υποδεικνύει ανηδονική δράση της αμφεταμίνης στον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό και στις άλλες έρευνες οι οποίες μιλούν για την ηδονική της δράση, οφείλεται πιθανότατα στην ύπαρξη διαγενεακών επιδράσεων, οι οποίες οφείλονται στην χορήγηση Δ^9 -THC στις μητέρες των F1 αρσενικών. Ειδικότερα η χρήση Δ^9 -THC από τις μητέρες των αρσενικών κατά την εφηβεία τους προκάλεσε κάποιες επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες μέσω της βλαστικής τους σειράς, πέρασαν στους απογόνους τους (Skinner, 2011) και εμφανίστηκαν ως μείωση της ενισχυτικής δράσης που έχει η αμφεταμίνη σε αυτούς στη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Παρατηρούμε δηλαδή ότι από πίσω κρύβεται ένας παρόμοιος μηχανισμός με αυτόν που συζητήσαμε εκτενώς για τους επίμυες που έλαβαν Δ^9 -THC και εξετάστηκαν με τη μέθοδο του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού. Ειδικότερα φαίνεται πως η χορήγηση Δ^9 -THC στους θηλυκούς επίμυες προκάλεσε κάποιες πλαστικές αλλαγές στο κύκλωμα ανταμοιβής του εγκεφάλου τους, οι οποίες οδήγησαν στην εξασθένιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της αμφεταμίνης. Όπως είδαμε και παραπάνω η Δ^9 -THC είναι σε θέση να προκαλέσει αλλαγές σε περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής, όπως ο επικλινής πυρήνας (Heiferts & Castillo, 2009), αλλά και σε άλλες περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής (Spiga και συν., 2011). Ωστόσο, εύλογα θα μπορούσε να αναρωτηθεί κανείς πώς οι πλαστικές αλλαγές που προκαλούνται από την Δ^9 -THC, μπορούν να επηρεάσουν την απόκριση ενός οργανισμού και σε άλλες εθιστικές ουσίες, όπως είναι η αμφεταμίνη. Απάντηση στο ερώτημα αυτό δίνουν αρκετές έρευνες που υποστηρίζουν την εμπλοκή του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών στη ρύθμιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων άλλων ουσιών συμπεριλαμβανομένης και της αμφεταμίνης. Για παράδειγμα οι Parker και συν. (2004), αναφέρουν ότι η χορήγηση μικρών δόσεων της Δ^9 -THC και της κανναβιδιόλης, ευόδωσε την επαγόμενη από την αμφεταμίνη, απόσβεση της εξαρτημένης προτίμησης θέσης σε πειραματόζωα. Επιπλέον σύμφωνα με τους Thiermann και συν. (2008), η προχορήγηση του ανταγωνιστή AM251 των υποδοχέα CB1 των κανναβινοειδών πριν την αμφεταμίνη αύξησε ακόμα περισσότερο την απελευθέρωση ντοπαμίνης στον επικλινή πυρήνα των πειραματόζωων. Τέλος η εμπλοκή του συστήματος των ενδογενών κανναβινοειδών στη ρύθμιση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της αμφεταμίνης, φαίνεται και από το γεγονός ότι έχουν το ρόλο ρυθμιστή σε περιοχές του κυκλώματος ανταμοιβής ρυθμίζοντας την GABAεργική και τη γλουταμινεργική νευροδιαβίβαση και εμμέσως την ντοπαμινεργική νευροδιαβίβαση, όπως και η αμφεταμίνη, ενώ συμμετέχουν επίσης και στη ρύθμιση της επαγόμενης από τα ψυχοδιεγερτικά συναπτικής πλαστικότητας στο μεσομεταιχμιακό σύστημα ανταμοιβής (Wolf, Sun, Magiavacchi &Chao, 2004).

Ανακεφαλαιώνοντας τα αποτελέσματα από τον ενδοκρανιακό αυτοερεθισμό, θα λέγαμε ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες, έχει σαν αποτέλεσμα την κληροδότηση στους αρσενικούς απογόνους τους ενός φαινότυπου, στον οποίο εξαφανίζονται οι ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC (όταν αυτή χορηγείται σε δόση 0.1 mg/kg), αλλά και της αμφεταμίνης (όταν αυτή χορηγείται σε δόσεις 0.5 και 1mg/kg). Ευρήματα τώρα για παρόμοιες δράσεις αναφέρονται από τους Vassoler και συν. (2013), οι οποίοι μιλούν στην έρευνά τους για την κληρονόμηση ενός φαινότυπου στον οποίο οι επίμεις, των οποίων οι πατέρες είχαν εκτεθεί κατά την εφηβεία τους σε κοκαΐνη, βιώνουν μειωμένες ενισχυτικές δράσεις της κοκαΐνης. Αναλυτικότερα οι Vassoler και συν. (2013), αναφέρουν στην έρευνά τους ότι οι επίμυες των οποίων οι πατέρες είχαν λάβει κοκαΐνη κατά την εφηβεία τους, παρουσίασαν καθυστερημένη εκμάθηση της διαδικασίας αυτοχορήγησης της κοκαΐνης σε σχέση με τους επίμεις των οποίων οι πατέρες δεν είχαν λάβει κοκαΐνη και επίσης κατά τη διάρκεια της αυτοχορήγησης της κοκαΐνης, πίεζαν το μοχλό λιγότερο σε σχέση με αυτούς των οποίων οι πατέρες δεν είχαν λάβει κοκαΐνη, γεγονός που υποδεικνύει μείωση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της κοκαΐνης. Σύμφωνα με τους Vassoler και συν. (2013) αυτή η μειωμένη ενίσχυση που παρατηρείται στους αρσενικούς απογόνους αρσενικών επίμυων που έλαβαν κοκαΐνη κατά την εφηβεία τους, οφείλεται στο γεγονός ότι κοκαΐνη που έλαβαν τα αρσενικά κατά την εφηβεία τους, μέσω ενός επιγενετικού μηχανισμού, επαναπρογραμματίζει την βλαστική τους σειρά, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο στην κληρονόμηση από τους απογόνους ενός φαινότυπου που αντιδρά διαφορετικά στις ενισχυτικές ιδιότητες της κοκαΐνης.

Κατά παρόμοιο τρόπο και στην παρούσα έρευνα είναι πολύ πιθανό η χορήγηση Δ^9 -THC σε θηλυκούς επίμυες κατά την εφηβεία τους, μέσω ενός επιγενετικού μηχανισμού να οδήγησε σε επαναπρογραμματισμό της βλαστικής σειράς αυτών των θηλυκών, οδηγώντας στην κληρονόμηση από τους αρσενικούς απογόνους τους ενός φαινότυπου που αντιστέκεται στις ενισχυτικές ιδιότητες τόσο της Δ^9 -THC, όσο και της αμφεταμίνης.

Όπως αναφέραμε και στην συζήτηση των αποτελεσμάτων της κινητικότητας και στη συζήτηση των αποτελεσμάτων του ενδοκρανιακού αυτοερεθισμού η έκθεση των F0 θηλυκών σε Δ^9 -THC (0.1 και 1), προκάλεσε σε αυτούς κάποιες επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες πέρασαν μέσω της βλαστικής σειράς στους F1 αρσενικούς απογόνους τους. Ωστόσο δεν αναφέραμε ακριβείς επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες δύναται να προκληθούν από τη χορήγηση Δ^9 -THC. Οι Furst, Riba και Al-Khasani (2013), αναφέρουν ότι η χορήγηση Δ^9 -THC σε πειραματόζωα, έχει σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του γονιδίου FosB. Σύμφωνα με τους Yang, Hedge, Rao, Zhang, Nagarkatti και Nagarkatti (2014), η ενεργοποίηση του γονιδίου FosB από την κοκαΐνη, έχει συσχετιστεί με αυξημένη ακετυλίωση της ιστόνης 4 στην περιοχή των υποκινητών του γονιδίου και κατά παρόμοιο τρόπο είναι πιθανό η ενεργοποίηση του FosB από την Δ^9 -THC να οδηγεί και αυτή σε ακετυλίωση με παρόμοιο τρόπο, ρυθμίζοντας έτσι την ενεργοποίηση ή την καταστολή του εκάστοτε γονιδίου. Τέλος σύμφωνα

με τους Yang και συν. (2014), η χορήγηση Δ^9 -THC, έχει βρεθεί ότι προκαλεί στις περισσότερες των περιπτώσεων και μεθυσία των ιστονών διαφόρων γονιδίων.

Συνοψίζοντας, φαίνεται πως η έκθεση θηλυκών επίμων κατά την εφηβεία τους σε Δ^9 -THC (0.1 και 1 mg/kg), έχει ως αποτέλεσμα να αντιστέφεται στους αρσενικούς απογόνους η ικανότητα των δόσεων 0.5 και 1 mg/kg της Δ^9 -THC να προκαλούν υποκινητικότητα, ενώ η μητρική έκθεση στην THC, φαίνεται πως είναι σε θέση να εξαλείψει τις ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC (0.1 mg/kg) και να μειώσει αισθητά αυτές της αμφεταμίνης (0.5 και 1 mg/kg). Τα ευρήματα αυτά είναι πολύ σημαντικά, καθώς πρόκειται ουσιαστικά για την πρώτη έρευνα, στην οποία αναφέρεται η κληρονόμηση ενός φαινότυπου, στον οποίο καταργείται η ικανότητα της Δ^9 -THC να προκαλεί υποκινητικότητα σε μεγάλες δόσεις, καθώς επίσης και οι ενισχυτικές επιδράσεις της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης. Γενικεύοντας τα παραπάνω αποτελέσματα στους ανθρώπους, τα ευρήματα είναι σημαντικά, καθότι δείχνουν ότι η μητρική χρήση κάνναβης, σχετίζεται με μηχανισμούς που αντιστρέφουν τις κινητικές επιδράσεις της κάνναβης στους μελλοντικούς απογόνους καθώς και με μηχανισμούς, οι οποίοι συμβάλουν στην παύση- απενεργοποίηση των ενισχυτικών ιδιοτήτων της Δ^9 -THC και της αμφεταμίνης. Μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να ελέγξουν τον ακριβή μηχανισμό μέσω του οποίου πραγματοποιούνται αυτές οι αλλαγές στις κινητικές και ενισχυτικές ιδιότητες της Δ^9 -THC και στις ενισχυτικές ιδιότητες της αμφεταμίνης, ενώ θα μπορούσαν επίσης να ελεγχθούν και τυχόν διαγενεακές επιδράσεις που μπορεί να έχει η Δ^9 -THC, με τη χορήγηση στους απογόνους των θηλυκών, άλλων εθιστικών ουσιών.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Abel, E. L. (1989). Paternal and maternal alcohol consumption: effects on offspring in two strains of rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 13(4), 533-541.

Abel, E. L. (1991). Paternal alcohol consumption affects grooming response in rat offspring. *Alcohol*, 8(1), 21-23.

Abel, E. L. (1993). Rat offspring sired by males treated with alcohol. *Alcohol*, 10(3), 237-242.

Abel, E. L. (1993). Paternal alcohol exposure and hyperactivity in rat offspring: effects of amphetamine. *Neurotoxicology and teratology*, 15(6), 445-449.

Abel, E. L. (1994). Effects of Physostigmine on Male Offspring Sired by Alcohol-Treated Fathers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 18(3), 648-652.

Abel, E. L., & Bilitzke, P. (1990). Paternal alcohol exposure: paradoxical effect in mice and rats. *Psychopharmacology*, 100(2), 159-164.

Abel, E. L., & Lee, J. A. (1988). Paternal alcohol exposure affects offspring behavior but not body or organ weights in mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 12(3), 349-355.

Abel, E. L., Moore, C., Waselewsky, D., Zajac, C., & Russell, L. D. (1989). Effects of cocaine hydrochloride on reproductive function and sexual behavior of male rats and on the behavior of their offspring. *Journal of andrology*, 10(1), 17-27.

Abel, E. L., & Tan, S. E. (1988). Effects of paternal alcohol consumption on pregnancy outcome in rats. *Neurotoxicology and teratology*, 10(3), 187-192.

Aboud, M. E., & Martin, B. R. (1992). Neurobiology of marijuana abuse. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13, 201-206.

Bardo, M. T. (1998). Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Critical Reviews™ in Neurobiology*, 12(1-2).

Bauer, C. T., Banks, M. L., Blough, B. E., & Negus, S. S. (2013). Use of intracranial self-stimulation to evaluate abuse-related and abuse-limiting effects of monoamine releasers in rats. *British journal of pharmacology*, 168(4), 850-862.

Beninger, R. J. (1983). The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Research Reviews*, 6(2), 173-196.

Berger, S. L. (2007). The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature*, 447(7143), 407-412.

Bernstein, J. G. (1995). *Handbook of drug therapy in psychiatry*. CV Mosby Co.

Binder, N. K., Mitchell, M., & Gardner, D. K. (2012). Parental diet-induced obesity leads to retarded early mouse embryo development and altered carbohydrate utilisation by the blastocyst. *Reproduction, Fertility and Development*, 24(6), 804-812.

Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447(7143), 396-398.

- Black, Y. D., Maclaren, F. R., Naydenov, A. V., Carlezon, W. A., Baxter, M. G., & Konradi, C. (2006). Altered attention and prefrontal cortex gene expression in rats after binge-like exposure to cocaine during adolescence. *The Journal of neuroscience*, *26*(38), 9656-9665.
- Brami-Cherrier, K., Valjent, E., Hervé, D., Darragh, J., Corvol, J. C., Pages, C., ... & Caboche, J. (2005). Parsing molecular and behavioral effects of cocaine in mitogen- and stress-activated protein kinase-1-deficient mice. *The Journal of neuroscience*, *25*(49), 11444-11454.
- Bressan, R. A., & Crippa, J. A. (2005). The role of dopamine in reward and pleasure behaviour—review of data from preclinical research. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, *111*(s427), 14-21.
- Byrnes, E. M. (2005). Transgenerational consequences of adolescent morphine exposure in female rats: effects on anxiety-like behaviors and morphine sensitization in adult offspring. *Psychopharmacology*, *182*(4), 537-544.
- Byrnes, J. J., Babb, J. A., Scanlan, V. F., & Byrnes, E. M. (2011). Adolescent opioid exposure in female rats: transgenerational effects on morphine analgesia and anxiety-like behavior in adult offspring. *Behavioural brain research*, *218*(1), 200-205.
- Byrnes, J. J., Johnson, N. L., Carini, L. M., & Byrnes, E. M. (2013). Multigenerational effects of adolescent morphine exposure on dopamine D2 receptor function. *Psychopharmacology*, *227*(2), 263-272.
- Byrnes, J. J., Johnson, N. L., Schenk, M. E., & Byrnes, E. M. (2012). Cannabinoid exposure in adolescent female rats induces transgenerational effects on morphine conditioned place preference in male offspring. *Journal of Psychopharmacology*, *26*(10), 1348-1354.
- Cadoni, C., Pisanu, A., Solinas, M., Acquas, E., & Chiara, G. (2001). Behavioural sensitization after repeated exposure to Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine. *Psychopharmacology*, *158*(3), 259-266.
- Carlezon, W. A., & Chartoff, E. H. (2007). Intracranial self-stimulation (ICSS) in rodents to study the neurobiology of motivation. *Nature protocols*, *2*(11), 2987-2995.
- Chen, J., Paredes, W., Lowinson, J. H., & Gardner, E. L. (1991). Strain-specific facilitation of dopamine efflux by Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the nucleus accumbens of rat: an in vivo microdialysis study. *Neuroscience letters*, *129*(1), 136-140.
- Childers, S. R., & Breivogel, C. S. (1998). Cannabis and endogenous cannabinoid systems. *Drug and alcohol dependence*, *51*(1), 173-187.
- Ciccarone, D. (2011). Stimulant abuse: pharmacology, cocaine, methamphetamine, treatment, attempts at pharmacotherapy. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, *38*(1), 41-58.
- Cicero, T. J., Adams, M. L., Giordano, A. N. T. H. O. N. Y., Miller, B. T., O'Connor, L. Y. N. N., & Nock, B. R. U. C. E. (1991). Influence of morphine exposure during adolescence on the sexual maturation of male rats and the development of their offspring. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *256*(3), 1086-1093.
- Cicero, T. J., Adams, M. L., O'Connor, L., Nock, B., Meyer, E. R., & Wozniak, D. (1990). Influence of chronic alcohol administration on representative indices of puberty and sexual maturation in male rats

and the development of their progeny. *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 255(2), 707-715.

Crider, A., Solomon, P. R., & McMahon, M. A. (1982). Disruption of selective attention in the rat following chronic d-amphetamine administration: relationship to schizophrenic attention disorder. *Biological psychiatry*.

Cossu, G., Ledent, C., Fattore, L., Imperato, A., Böhme, G. A., Parmentier, M., & Fratta, W. (2001). Cannabinoid CB 1 receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behavioural brain research*, 118(1), 61-65.

Dani, J. A., & De Biasi, M. (2001). Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 70(4), 439-446.

Demers, C. H., Bogdan, R., & Agrawal, A. (2014). The genetics, neurogenetics and pharmacogenetics of addiction. *Current behavioral neuroscience reports*, 1(1), 33-44.

De Pinho, A. R. (1975). Social and medical aspects of the use of cannabis in Brazil. *Cannabis and Culture*, 293-302.

Diana, M., Melis, M., Muntoni, A. L., & Gessa, G. L. (1998). Mesolimbic dopaminergic decline after cannabinoid withdrawal. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 10269-10273.

de Fonseca, F. R., Carrera, M. R. A., Navarro, M., Koob, G. F., & Weiss, F. (1997). Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science*, 276(5321), 2050-2054.

Del Arco, I., Martí, J. L., Gorriti, M. A., & Navarro, M. (1998). Role of the endogenous cannabinoid system in the regulation of motor activity. *Neurobiology of disease*, 5(6), 483-501.

Dietz, D. M., LaPlant, Q., Watts, E. L., Hodes, G. E., Russo, S. J., Feng, J., ... & Nestler, E. J. (2011). Paternal transmission of stress-induced pathologies. *Biological psychiatry*, 70(5), 408-414.

Ellgren, M., Hurd, Y. L., & Franck, J. (2004). Amphetamine effects on dopamine levels and behavior following cannabinoid exposure during adolescence. *European journal of pharmacology*, 497(2), 205-213.

Esposito, R. U., Perry, W., & Kornetsky, C. (1980). Effects of d-amphetamine and naloxone on brain stimulation reward. *Psychopharmacology*, 69(2), 187-191.

Fankhauser, M. (2002). *History of cannabis in Western medicine*. New York: The Haworth Integrative Healing Press.

Faure, P., Tolu, S., Valverde, S., & Naudé, J. (2014). Role of nicotinic acetylcholine receptors in regulating dopamine neuron activity. *Neuroscience*, 282, 86-100.

Felder, C. C., & Glass, M. (1998). Cannabinoid receptors and their endogenous agonists. *Annual Review of Pharmacology and toxicology*, 38(1), 179-200.

Feldman, R. S., Meyer, J. S., Quenzer, L. F., & Cooper, J. R. (1997). *Principles of neuropsychopharmacology* (pp. 277-344). Sunderland: Sinauer Associates.

- Ferger, B., Kropf, W., & Kuschinsky, K. (1994). Studies on electroencephalogram (EEG) in rats suggest that moderate doses of cocaine and amphetamine activate D1 rather than D2 receptors. *Psychopharmacology*, *114*(2), 297-308.
- Finegersh, A., & Homanics, G. E. (2014). Paternal alcohol exposure reduces alcohol drinking and increases behavioral sensitivity to alcohol selectively in male offspring.
- Fokos, S., & Panagis, G. (2009). Effects of Δ 9-tetrahydrocannabinol on reward and anxiety in rats exposed to chronic unpredictable stress. *Journal of Psychopharmacology*.
- Franklin, T. B., Russig, H., Weiss, I. C., Gräff, J., Linder, N., Michalon, A., ... & Mansuy, I. M. (2010). Epigenetic transmission of the impact of early stress across generations. *Biological psychiatry*, *68*(5), 408-415.
- Freeman, W. M., Patel, K. M., Brucklacher, R. M., Lull, M. E., Erwin, M., Morgan, D., ... & Vrana, K. E. (2008). Persistent alterations in mesolimbic gene expression with abstinence from cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*, *33*(8), 1807-1817.
- French, E. D., Dillon, K., & Wu, X. (1997). Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra. *Neuroreport*, *8*(3), 649-652.
- Fürst, Z., Riba, P., & Al-Khrasani, M. A. H. M. O. U. D. (2013). New approach to the neurobiological mechanisms of addiction. *Neuropsychopharmacol Hung*, *15*(4), 189-205.
- Gardner, E. L. (2005). Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *81*(2), 263-284.
- Gardner, E. L., Paredes, W., Smith, D., Donner, A., Milling, C., Cohen, D., & Morrison, D. (1988). Facilitation of brain stimulation reward by Δ 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology*, *96*(1), 142-144.
- Gardner, E. L., & Vorel, S. R. (1998). Cannabinoid transmission and reward-related events. *Neurobiology of disease*, *5*(6), 502-533.
- Gerdeman, G., & Lovinger, D. M. (2001). CB1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. *Journal of Neurophysiology*, *85*(1), 468-471.
- Giuffrida, A., Parsons, L. H., Kerr, T. M., De Fonseca, F. R., Navarro, M., & Piomelli, D. (1999). Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nature neuroscience*, *2*(4), 358-363.
- Glass, M., Faull, R. L. M., & Dragunow, M. (1997). Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*, *77*(2), 299-318.
- Goldman, D., Oroszi, G., & Ducci, F. (2005). The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nature Reviews Genetics*, *6*(7), 521-532.
- Gorriti, M. A., de Fonseca, F. R., Navarro, M., & Palomo, T. (1999). Chronic (-)- Δ 9-tetrahydrocannabinol treatment induces sensitization to the psychomotor effects of amphetamine in rats. *European journal of pharmacology*, *365*(2), 133-142.

- Govorko, D., Bekdash, R. A., Zhang, C., & Sarkar, D. K. (2012). Male germline transmits fetal alcohol adverse effect on hypothalamic proopiomelanocortin gene across generations. *Biological psychiatry*, *72*(5), 378-388.
- Haney, M., Ward, A. S., Comer, S. D., Foltin, R. W., & Fischman, M. W. (1999). Abstinence symptoms following smoked marijuana in humans. *Psychopharmacology*, *141*(4), 395-404.
- Haracz, J. L., Tschanz, J. T., Wang, Z., White, I. M., & Rebec, G. V. (1993). Striatal single-unit responses to amphetamine and neuroleptics in freely moving rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *17*(1), 1-12.
- He, F., Lidow, I. A., & Lidow, M. S. (2006). Consequences of paternal cocaine exposure in mice. *Neurotoxicology and teratology*, *28*(2), 198-209.
- Heifets, B. D., & Castillo, P. E. (2009). Endocannabinoid signaling and long-term synaptic plasticity. *Annual review of physiology*, *71*, 283.
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of neuroscience*, *11*(2), 563-583.
- Herkenham, M. A. B. L., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., De Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the national Academy of sciences*, *87*(5), 1932-1936.
- Ho, M. K., Goldman, D., Heinz, A., Kaprio, J., Kreek, M. J., Li, M. D., ... & Tyndale, R. F. (2010). Breaking barriers in the genomics and pharmacogenetics of drug addiction. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *88*(6), 779-791.
- Huang, C. C., Lo, S. W., & Hsu, K. S. (2001). Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *The Journal of physiology*, *532*(3), 731-748.
- Hughes, V. (2014). Epigenetics: the sins of the father. *Nature*, *507*, 22-24.
- Hunt, G. E., & Atrens, D. M. (1992). Reward summation and the effects of pimozide, clonidine, and amphetamine on fixed-interval responding for brain stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *42*(4), 563-577.
- Jaenisch, R., & Bird, A. (2003). Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nature genetics*, *33*, 245-254.
- Jamerson, P. A., Wulser, M. J., & Kimler, B. F. (2004). Neurobehavioral effects in rat pups whose sires were exposed to alcohol. *Developmental brain research*, *149*(2), 103-111.
- Järbe, T. U., Andrzejewski, M. E., & DiPatrizio, N. V. (2002). Interactions between the CB1 receptor agonist Δ 9-THC and the CB1 receptor antagonist SR-141716 in rats: open-field revisited. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *73*(4), 911-919.
- Johnson, N. L., Carini, L., Schenk, M. E., Stewart, M., & Byrnes, E. M. (2011). Adolescent opiate exposure in the female rat induces subtle alterations in maternal care and transgenerational effects on play behavior. *Frontiers in psychiatry*, *2*.

- Katsidoni, V., Kastellakis, A., & Panagis, G. (2013). Biphasic effects of $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *16*(10), 2273-2284.
- Killinger, C. E., Robinson, S., & Stanwood, G. D. (2012). Subtle biobehavioral effects produced by paternal cocaine exposure. *Synapse*, *66*(10), 902-908.
- Kim, P., Choi, C. S., Park, J. H., Joo, S. H., Kim, S. Y., Ko, H. M., ... & Shin, C. Y. (2014). Chronic exposure to ethanol of male mice before mating produces attention deficit hyperactivity disorder-like phenotype along with epigenetic dysregulation of dopamine transporter expression in mouse offspring. *Journal of neuroscience research*, *92*(5), 658-670.
- Kokkinidis, L., & Zacharko, R. M. (1980). Enhanced lateral hypothalamic self-stimulation responding after chronic exposure to amphetamine. *Behavioral and neural biology*, *29*(4), 493-497.
- Koob, G. F., Sanna, P. P., & Bloom, F. E. (1998). Neuroscience of addiction. *neuron*, *21*(3), 467-476.
- Kreek, M. J., Nielsen, D. A., & LaForge, K. S. (2004). Genes associated with addiction. *Neuromolecular medicine*, *5*(1), 85-108.
- Kuczenski, R., Segal, D. S., Leith, N. J., & Applegate, C. D. (1987). Effects of amphetamine, methylphenidate, and apomorphine on regional brain serotonin and 5-hydroxyindole acetic acid. *Psychopharmacology*, *93*(3), 329-335.
- Kumar, A., Choi, K. H., Renthall, W., Tsankova, N. M., Theobald, D. E., Truong, H. T., ... & Nestler, E. J. (2005). Chromatin remodeling is a key mechanism underlying cocaine-induced plasticity in striatum. *Neuron*, *48*(2), 303-314.
- Lamarque, S., Taghzouti, K., & Simon, H. (2001). Chronic treatment with $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol enhances the locomotor response to amphetamine and heroin. Implications for vulnerability to drug addiction. *Neuropharmacology*, *41*(1), 118-129.
- Larsen, K. E., Fon, E. A., Hastings, T. G., Edwards, R. H., & Sulzer, D. (2002). Methamphetamine-induced degeneration of dopaminergic neurons involves autophagy and upregulation of dopamine synthesis. *The Journal of neuroscience*, *22*(20), 8951-8960.
- Leith, N. J., & Barrett, R. J. (1976). Amphetamine and the reward system: evidence for tolerance and post-drug depression. *Psychopharmacologia*, *46*(1), 19-25.
- Leith, N. J., & Barrett, R. J. (1981). Self-stimulation and amphetamine: Tolerance to d and l isomers and cross tolerance to cocaine and methylphenidate. *Psychopharmacology*, *74*(1), 23-28.
- Lepore, M., Liu, X., Savage, V., Matalon, D., & Gardner, E. L. (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 rat strains. *Life sciences*, *58*(25), PL365-PL372.
- Lerman, C., & Berrettini, W. (2003). Elucidating the role of genetic factors in smoking behavior and nicotine dependence. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *118*(1), 48-54.

- Li, H. L. (1973). An archaeological and historical account of cannabis in China. *Economic Botany*, 28(4), 437-448.
- Li, C. Y., Zhou, W. Z., Zhang, P. W., Johnson, C., Wei, L., & Uhl, G. R. (2011). Meta-analysis and genome-wide interpretation of genetic susceptibility to drug addiction. *BMC genomics*, 12(1), 508.
- Lichtman, A. H., & Martin, B. R. (2005). Cannabinoid tolerance and dependence. In *Cannabinoids* (pp. 691-717). Springer Berlin Heidelberg.
- Lyon, M., & Robbins, T. W. (1975). The action of central nervous system stimulant drugs: a general theory concerning amphetamine effects. *Current developments in psychopharmacology*, 2, 79-163.
- Maldonado, R., & de Fonseca, F. R. (2002). Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlates. *The Journal of neuroscience*, 22(9), 3326-3331.
- Manzoni, O. J., & Bockaert, J. (2001). Cannabinoids inhibit GABAergic synaptic transmission in mice nucleus accumbens. *European journal of pharmacology*, 412(2), R3-R5.
- Martin, C., & Zhang, Y. (2007). Mechanisms of epigenetic inheritance. *Current opinion in cell biology*, 19(3), 266-272.
- Masserano, J. M., Karoum, F., & Wyatt, R. J. (1999). SR 141716A, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, potentiates the locomotor stimulant effects of amphetamine and apomorphine. *Behavioural pharmacology*, 10(4), 429-432.
- Maze, I., & Nestler, E. J. (2011). The epigenetic landscape of addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1216(1), 99-113.
- Meek, L. R., Myren, K., Sturm, J., & Burau, D. (2007). Acute paternal alcohol use affects offspring development and adult behavior. *Physiology & behavior*, 91(1), 154-160.
- Merikangas, K. R., Stolar, M., Stevens, D. E., Goulet, J., Preisig, M. A., Fenton, B., ... & Rounsaville, B. J. (1998). Familial transmission of substance use disorders. *Archives of general psychiatry*, 55(11), 973-979.
- Mikuriya, T. H. (1969). Marijuana in medicine: past, present and future. *California Medicine*, 110(1), 34.
- Muschamp, J. W., & Sivity, S. M. (2002). Behavioral sensitization to amphetamine follows chronic administration of the CB 1 agonist WIN 55,212-2 in Lewis rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(4), 835-842.
- Negus, S. S., & Miller, L. L. (2014). Intracranial self-stimulation to evaluate abuse potential of drugs. *Pharmacological reviews*, 66(3), 869-917.
- Nestler, E. J. (2014). Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, 76, 259-268.
- Nielsen, D. A., Utrankar, A., Reyes, J. A., Simons, D. D., & Kosten, T. R. (2012). Epigenetics of drug abuse: predisposition or response. *Pharmacogenomics*, 13(10), 1149-1160.
- Παναγής, Γ. (2010). *Νευροεπιστήμη της συμπεριφοράς βασικές αρχές, μέθοδοι, τεχνικές και εργαστηριακές ασκήσεις*. Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ. ΠΑΣΧΛΙΔΗΣ.

- Parker, L. A., Burton, P., Sorge, R. E., Yakiwchuk, C., & Mechoulam, R. (2004). Effect of low doses of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol on the extinction of cocaine-induced and amphetamine-induced conditioned place preference learning in rats. *Psychopharmacology*, *175*(3), 360-366
- Paterson, N. E., Myers, C., & Markou, A. (2000). Effects of repeated withdrawal from continuous amphetamine administration on brain reward function in rats. *Psychopharmacology*, *152*(4), 440-446.
- Philibert, R. A., Beach, S. R., Gunter, T. D., Brody, G. H., Madan, A., & Gerrard, M. (2010). The effect of smoking on MAOA promoter methylation in DNA prepared from lymphoblasts and whole blood. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, *153*(2), 619-628.
- Polissidis, A., Chouliara, O., Galanopoulos, A., Rentesi, G., Dosi, M., Hyphantis, T., ... & Tzavara, E. T. (2010). Individual differences in the effects of cannabinoids on motor activity, dopaminergic activity and DARPP-32 phosphorylation in distinct regions of the brain. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *13*(9), 1175-1191.
- Pontieri, F. E., Monnazzi, P., Scontrini, A., Buttarelli, F. R., & Patacchioli, F. R. (2001). Behavioral sensitization to heroin by cannabinoid pretreatment in the rat. *European journal of pharmacology*, *421*(3), R1-R3.
- Pontieri, F. E., Monnazzi, P., Scontrini, A., Buttarelli, F. R., & Patacchioli, F. R. (2001). Behavioral sensitization to WIN55212. 2 in rats pretreated with heroin. *Brain research*, *898*(1), 178-180.
- Predy, P. A., & Kokkinidis, L. (1984). Sensitization to the effects of repeated amphetamine administration on intracranial self-stimulation: evidence for changes in reward processes. *Behavioural brain research*, *13*(3), 251-259.
- Ray, R., Mitra, N., Baldwin, D., Guo, M., Patterson, F., Heitjan, D. F., ... & Lerman, C. (2010). Convergent evidence that choline acetyltransferase gene variation is associated with prospective smoking cessation and nicotine dependence. *Neuropsychopharmacology*, *35*(6), 1374-1382.
- Renthal, W., & Nestler, E. J. (2008). Epigenetic mechanisms in drug addiction. *Trends in molecular medicine*, *14*(8), 341-350.
- Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., & Manzoni, O. J. (2002). Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(12), 8384-8388.
- Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research Reviews*, *11*(2), 157-198.
- Rothman, R. B., & Baumann, M. H. (2003). Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *European journal of pharmacology*, *479*(1), 23-40.
- Sachse-Seeboth, C., Pfeil, J., Sehrt, D., Meineke, I., Tzvetkov, M., Bruns, E., ... & Brockmüller, J. (2009). Interindividual Variation in the Pharmacokinetics of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol as Related to Genetic Polymorphisms in CYP2C9. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *85*(3), 273-276.
- Sasaki, A., Constantino, A., Pan, P., Kupferschmidt, D. A., McGowan, P. O., & Erb, S. (2014). Cocaine exposure prior to pregnancy alters the psychomotor response to cocaine and transcriptional

regulation of the dopamine D1 receptor in adult male offspring. *Behavioural brain research*, 265, 163-170.

Schlicker, E., & Kathmann, M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 22(11), 565-572.

Shalev, U., Grimm, J. W., & Shaham, Y. (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological reviews*, 54(1), 1-42.

Sharp, T., Zetterström, T., Ljungberg, T., & Ungerstedt, U. (1987). A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. *Brain research*, 401(2), 322-330.

Skinner, M. K. (2008). What is an epigenetic transgenerational phenotype?: F3 or F2. *Reproductive toxicology*, 25(1), 2-6.

Skinner, M. K. (2011). Role of epigenetics in developmental biology and transgenerational inheritance. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 93(1), 51-55.

Skinner, M. K., & Guerrero-Bosagna, C. (2009). Environmental signals and transgenerational epigenetics. *Epigenomics*, 1(1), 111-117.

Smirnov, M. S., & Kiyatkin, E. A. (2008). Behavioral and temperature effects of delta 9-tetrahydrocannabinol in human-relevant doses in rats. *Brain research*, 1228, 145-160.

Solanto, M. V. (1998). Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. *Behavioural brain research*, 94(1), 127-152.

Spiga, S., Lintas, A., & Diana, M. (2011). Altered mesolimbic dopamine system in THC dependence. *Current neuropharmacology*, 9(1), 200-204.

Stewart, J., & Badiani, A. (1993). Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioural pharmacology*, 4(4), 289-312.

Strahl, B. D., & Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403(6765), 41-45.

Sulzer, D. (2011). How addictive drugs disrupt presynaptic dopamine neurotransmission. *Neuron*, 69(4), 628-649.

Suzuki, M. M., & Bird, A. (2008). DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nature Reviews Genetics*, 9(6), 465-476.

Szutorisz, H., DiNieri, J. A., Sweet, E., Egervari, G., Michaelides, M., Carter, J. M., ... & Hurd, Y. L. (2014). Parental THC exposure leads to compulsive heroin-seeking and altered striatal synaptic plasticity in the subsequent generation. *Neuropsychopharmacology*, 39(6), 1315-1323.

Tanda, G., Pontieri, F. E., & Di Chiara, G. (1997). Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common $\mu 1$ opioid receptor mechanism. *Science*, 276(5321), 2048-2050.

Taylor, S. B., Lewis, C. R., & Olive, M. F. (2013). The neurocircuitry of illicit psychostimulant addiction: acute and chronic effects in humans. *Substance abuse and rehabilitation*, 4, 29.

- Thiemann, G., Di Marzo, V., Molleman, A., & Hasenöhrl, R. U. (2008). The CB 1 cannabinoid receptor antagonist AM251 attenuates amphetamine-induced behavioural sensitization while causing monoamine changes in nucleus accumbens and hippocampus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 89(3), 384-391.
- Thiemann, G., van der Stelt, M., Petrosino, S., Molleman, A., Di Marzo, V., & Hasenöhrl, R. U. (2008). The role of the CB 1 cannabinoid receptor and its endogenous ligands, anandamide and 2-arachidonoylglycerol, in amphetamine-induced behavioural sensitization. *Behavioural brain research*, 187(2), 289-296.
- Toledo-Rodriguez, M., Lotfipour, S., Leonard, G., Perron, M., Richer, L., Veillette, S., ... & Paus, T. (2010). Maternal smoking during pregnancy is associated with epigenetic modifications of the brain-derived neurotrophic factor-6 exon in adolescent offspring. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 153(7), 1350-1354.
- Touw, M. (1981). The religious and medicinal uses of Cannabis in China, India and Tibet. *Journal of psychoactive drugs*, 13(1), 23-34.
- Tsai, G., Gastfriend, D. R., & Coyle, J. T. (1995). The glutamatergic basis of human alcoholism. *The American journal of psychiatry*, 152(3), 332.
- Tsuang, M. T., Bar, J. L., Harley, R. M., & Lyons, M. J. (2001). The Harvard twin study of substance abuse: what we have learned. *Harvard review of psychiatry*, 9(6), 267-279.
- Uzych, L. (1999). Cannabis in Medical Practice. *Family & Community Health*, 22(1), 83-84.
- van der Stelt, M., & Di Marzo, V. (2003). The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system: implications for neurological and psychiatric disorders. *European journal of pharmacology*, 480(1), 133-150.
- Vassoler, F. M., Johnson-Collins, N. L., Carini, L. M., & Byrnes, E. M. (2014). Next generation effects of female adolescent morphine exposure: sex-specific alterations in response to acute morphine emerge before puberty. *Behavioural pharmacology*, 25(2), 173
- Vassoler, F. M., Johnson, N. L., & Byrnes, E. M. (2013). Female adolescent exposure to cannabinoids causes transgenerational effects on morphine sensitization in female offspring in the absence of in utero exposure. *Journal of Psychopharmacology*, 27(11), 1015-1022.
- Vassoler, F. M., White, S. L., Schmidt, H. D., Sadri-Vakili, G., & Pierce, R. C. (2013). Epigenetic inheritance of a cocaine-resistance phenotype. *Nature neuroscience*, 16(1), 42-47.
- Verweij, K. J., Zietsch, B. P., Lynskey, M. T., Medland, S. E., Neale, M. C., Martin, N. G., ... & Vink, J. M. (2010). Genetic and environmental influences on cannabis use initiation and problematic use: a meta-analysis of twin studies. *Addiction*, 105(3), 417-430.
- Vink, J. M., Willemsen, G., & Boomsma, D. I. (2005). Heritability of smoking initiation and nicotine dependence. *Behavior genetics*, 35(4), 397-406.
- Vlachou, S., Nomikos, G. G., Stephens, D. N., & Panagis, G. (2007). Lack of evidence for appetitive effects of Δ 9-tetrahydrocannabinol in the intracranial self-stimulation and conditioned place preference procedures in rodents. *Behavioural pharmacology*, 18(4), 311-319.

- Wise, R. A. (1996). Neurobiology of addiction. *Current opinion in neurobiology*, 6(2), 243-251.
- Wise, R. A. (1996). Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual review of neuroscience*, 19(1), 319-340.
- Wolf, M. E., Sun, X., Mangiavacchi, S., & Chao, S. Z. (2004). Psychomotor stimulants and neuronal plasticity. *Neuropharmacology*, 47, 61-79.
- Wozniak, D. F., Cicero, T. J., Kettinger III, L., & Meyer, E. R. (1991). Paternal alcohol consumption in the rat impairs spatial learning performance in male offspring. *Psychopharmacology*, 105(2), 289-302.
- Yang, X., Hegde, V. L., Rao, R., Zhang, J., Nagarkatti, P. S., & Nagarkatti, M. (2014). Histone modifications are associated with Δ^9 -tetrahydrocannabinol-mediated alterations in antigen-specific T cell responses. *Journal of Biological Chemistry*, 289(27), 18707-18718.
- Zangen, A., Solinas, M., Ikemoto, S., Goldberg, S. R., & Wise, R. A. (2006). Two brain sites for cannabinoid reward. *The Journal of neuroscience*, 26(18), 4901-4907.
- Zhu, J., Lee, K. P., Spencer, T. J., Biederman, J., & Bhide, P. G. (2014). Transgenerational transmission of hyperactivity in a mouse model of ADHD. *The Journal of Neuroscience*, 34(8), 2768-2773.
- Zuardi, A. W. (2006). History of cannabis as a medicine: a review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 28(2), 153-157.