

**DOPAMIINIRESEPTORIEN MERKITYS  
1-BENTSYYLIPIPERATSIININ PALKITSEVUUDESSA**

Pro gradu-tutkielma

Miina Kajos

Helsingin yliopisto

Bio- ja ympäristötieteiden laitos

Fysiologian osasto

Lokakuu 2005

Tiedekunta/Osasto Fakultet/Sektion – Faculty <b>Biotieteellinen tiedekunta</b>		Laitos Institution – Department <b>Bio- ympäristötieteiden laitos</b>	
Tekijä/Författare – Author <b>Miina Kajos</b>			
Työn nimi Arbetets titel – Title <b>Dopamiinireseptorien osuus 1-bentsyyliiperatsiin palkitsevuudessa</b>			
Oppiaine Läroämne – Subject <b>Fysiologinen eläintiede</b>			
Työn laji Arbetets art – Level <b>Pro gradu</b>		Aika Datum – Month and year <b>Lokakuu 2005</b>	Sivumäärä Sidoantal – Number of pages <b>49</b>
Tiivistelmä Referat – Abstract			
<p>1-Bentsyyliiperatsiini (BZP) on viime vuosina laittomille markkinoille ilmaantunut ns. designhuume, jonka on todettu muistuttavan vaikutuksiltaan amfetamiinia. Sen myynti tapahtuu tyypillisesti tanssiklubeilla ja Internetin välityksellä. Esimerkiksi Yhdysvalloissa BZP on luokiteltu laittomaksi, mutta suurimmassa osassa maailmaa aine on huumausainelainsäädännön ulkopuolella. Suomesta ainetta takavarikoitiin neljästi vuosina 2002-04.</p> <p>Tässä tutkimuksessa selvitetään ehdollistetun paikkahakuisuuskokeen avulla, onko BZP:lla palkitsevia ominaisuuksia. Kokeessa koe-eläimet opetetaan yhdistämään tutkittavan aineen vaikutukset tiettyyn ympäristöön, ja mikäli eläin alkaa tämän jälkeen suosia ympäristöä, eli aine aiheuttaa paikkahakuisuutta, tulkitaan aineella olevan palkitsevia ominaisuuksia. Palkitsevien ominaisuuksien katsotaan heijastavan aineen riippuvuuspotentiaalia, sillä useimpien ihmisten väärinkäyttämien aineiden on todettu aiheuttavan ehdollistettua paikkahakuisuutta.</p> <p>BZP:n todettiin aiheuttavan rotille ehdollistettua paikkahakuisuutta annosriippuvaisesti, minkä jälkeen selvitettiin reseptorisalpaajien avulla dopamiinireseptorien merkitystä paikkahakuisuuden synnylle. Dopamiini-1-, eli D1-reseptorisalpaus esti paikkahakuisuuden, kun taas D2-salpauksella ei ollut siihen vaikutusta.</p> <p>Kokeiden perusteella BZP:lla on palkitsevia vaikutuksia, jotka välittyvät D1-, mutteivät D2-reseptorien kautta. Tulokset viittaavat BZP:lla olevan väärinkäyttö- ja riippuvuuspotentiaalia, minkä vuoksi olisi perusteltua, että se kuuluisi lainsäädännöllisesti samaan kategoriaan mm. amfetamiinin kanssa.</p>			
Avainsanat – Nyckelord – Keywords <b>1- Bentsyyliiperatsiini, ehdollistettu paikkahakuisuus, dopamiinireseptori</b>			
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited <b>Fysiologian osaston käsikirjasto</b>			
Muuta tietoa – Övriga uppgifter – Additional information			

# SISÄLLYSLUETTELO

<b>KÄYTETYT LYHENTEET</b>	<b>4</b>
<b>1 JOHDANTO</b>	<b>5</b>
<b>2 MOTIVAATIO JA PÄIHDERIIPPUVUUS</b>	<b>7</b>
2.1 Vahvistaminen	7
2.2 Ehdollistuminen	8
2.3 Tottuminen ja herkistyminen	10
2.4 Lokomotorinen aktiivisuus	10
2.5 Dopamiini ja päihderiippuvuus	11
<b>3 KÄYTTÄYTYMISKOKEET RIIPPUVUUDEN MALLINTAMISESSA</b>	<b>14</b>
3.1 Kallonsisäinen itsestimulaatio	14
3.2 Itseannostelu	15
3.3 Ehdollistettu paikkahakuisuus	16
3.4 Tunnistusärsykeko	18
<b>4 1-BENTSYYLIPIPERATSIINI</b>	<b>19</b>
4.1 Historia	19
4.2 Esiintyvyys ja lainsäädäntö	20
4.3 Käyttökulttuuri	21
<b>4.4 Fyysiset, psyykkiset ja käyttäytymisvaikutukset</b>	<b>22</b>
4.4.1 Psykomotoriset ja subjektiiviset vaikutukset	22
4.4.2 Käyttäytymisvaikutukset koe-eläimissä	23
4.4.3 Autonomiset vaikutukset	23
4.4.4 Raportoidut vakavat haittavaikutukset	24
<b>4.5 Neurokemialliset vaikutukset</b>	<b>25</b>
4.5.1 Dopaminergiset vaikutukset	25
4.5.2 Noradrenergiset vaikutukset	26
4.5.3 Serotonergiset vaikutukset	27
<b>4.6 1-Bentsyyliipiperatsiinin ja 3-trifluorometyylifenyyliipiperatsiinin yhteisvaikutukset</b>	<b>28</b>

	3
<b>5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS</b>	<b>30</b>
<b>6 AINEISTO JA MENETELMÄT</b>	<b>31</b>
<b>6.1 Tutkittavat aineet</b>	<b>31</b>
<b>6.2 Eläimet</b>	<b>31</b>
<b>6.3 Ehdollistettu paikkahakuisuus</b>	<b>31</b>
6.3.1 Välineistö ja koehuone	32
6.3.2 Kokeen suoritus	32
<b>6.4 Tilastolliset menetelmät</b>	<b>34</b>
<b>7 TULOKSET</b>	<b>35</b>
<b>7.1 Ehdollistettu paikkahakuisuus</b>	<b>35</b>
<b>7.2 Reseptoripauskokeet</b>	<b>36</b>
7.2.1 Dopamiini-1-reseptoripaus	36
7.2.2 Dopamiini-2-reseptoripaus	37
<b>8 TULOSTEN TARKASTELU</b>	<b>39</b>
<b>8.1 1-Bentsyyli-piperatsiinin aiheuttama ehdollistettu paikkahakuisuus</b>	<b>39</b>
<b>8.2 Dopamiini-1-reseptoripauksen vaikutukset 1-bentsyyli-piperatsiinin aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen</b>	<b>39</b>
<b>8.3 Dopamiini-2-reseptoripauksen vaikutukset 1-bentsyyli-piperatsiinin aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen</b>	<b>40</b>
<b>9 POHDINTA</b>	<b>42</b>
<b>10 JOHTOPÄÄTÖKSET</b>	<b>44</b>
<b>KIITOKSET</b>	<b>45</b>
<b>VIITELUETTELO</b>	<b>46</b>

**KÄYTETYT LYHENTEET**

ANCOVA	analysis of covariance, kovarianssianalyysi
BZP	1-bentsyylipiperatsiini
D1	dopamiini-1(-reseptori)
D2	dopamiini-2(-reseptori)
DAT	dopamine uptake transporter protein; dopamiinin kuljettajaproteiini
DOPAC	3,4-dihydroksifenyylietikkahappo
GABA	gamma-aminovoihappo
5-HT	5-hydroksitryptamiini; serotoniini
i.p.	intraperitoneaalinen
m-CPP	3-klorofenyylipiperatsiini
MDA	3,4-metyleenidioksiamfetamiini
MDMA	3,4-metyleenidioksimetamfetamiini
6-OHDA	6-hydroksidopamiini
RAC	raklopridi
SERT	serotonin uptake transporter protein; serotoniinin kuljettajaproteiini
s.c.	subkutaaninen
SCH	SCH-23390
TFMPP	3-trifluorometyylifenyylipiperatsiini
TCA	trisyklinen antidepressantti
VEH	vehikkeli; kantoaine-
VT	ventraalinen tegmentumi

# 1 JOHDANTO

1-Bentsyylipiperatsiini (BZP) on viime vuosina laittomille huumemarkkinoille ilmaantunut yhdiste (de Boer ym., 2001). Se syntetisoitiin alunperin matolääkkeeksi, ja sittemmin sillä otaksuttiin olevan myös antidepressiivisiä vaikutuksia (Miller ym., 1971). Masennuslääkkeeksi BZP:a ei kuitenkaan lähdetty kehittämään, koska sen havaittiin muistuttavan vaikutuksiltaan amfetamiinia ja näin ollen sillä otaksuttiin olevan väärinkäyttöpotentiaalia (Bye ym., 1973; Campbell ym., 1973). Sittemmin BZP kuitenkin osoittautui erään masennuslääkekandidaatin aktiiviseksi aineenvaihduntatuotteeksi (Magyar ym., 1986).

BZP luokitellaan usein ns. design-huumeeksi. Design-huumeella tarkoitetaan tyypillisesti jonkin tunnetun huumeen rakennetta muokkaamalla aikaansaatu uutta yhdistettä, joka päihdyttävistä vaikutuksistaan huolimatta ei ole laitton. Yhteistä näille aineille vaikuttaa olevan pyrkimys kiertää olemassaolevaa huumausainelainsäädäntöä, ja monet niistä luokitellaankin ennen pitkää laittomiksi. Tilalle kuitenkin tulee jatkuvasti uusia yhdisteitä. Design-huumeen käsite on hyvin epävirallinen, sillä kaikkia design-huumeina tunnettuja aineita ei ole vartavasten johdettu muista yhdisteistä, ja monet niistä on myös tunnettu jo vuosikymmeniä. Lisäksi aineista puhutaan usein design-huumeina vielä senkin jälkeen, kun ne on julistettu laittomiksi.

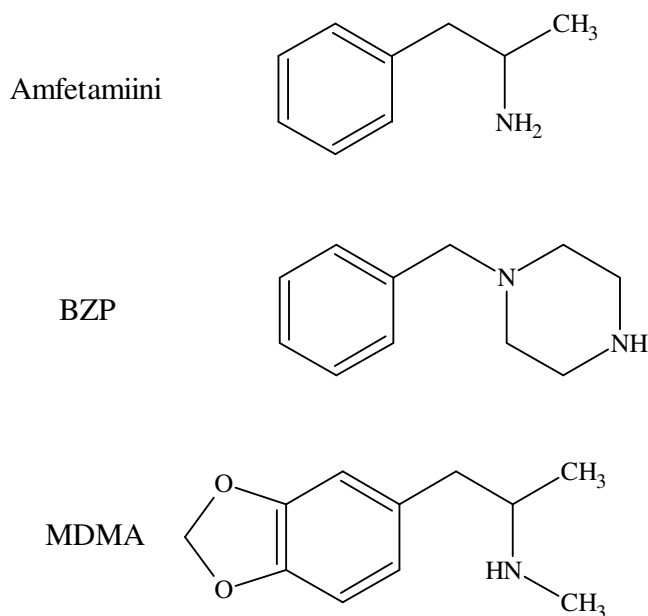
Tunnetuin esimerkki design-huumeesta lienee amfetamiinijohdos "ekstaasi", eli 3,4-metyleenidioksimetamfetamiini (MDMA), joka nykyään kuuluu kansainvälisiin huumausaineluetteluihin. Sillä on amfetamiininkaltaisia stimuloivia vaikutuksia, kuten mielialan koheneminen, unettomuus ja ruokahalun väheneminen. Sen lisäksi, että MDMA on nykyään laitonta, sen runsas käyttö näyttää aiheuttavan serotonergisiin hermosoluihin jopa pysyviä vaurioita, minkä vuoksi käyttäjät ovat alkaneet etsiä tilalle turvallisempia vaihtoehtoja. BZP on yksi MDMA:n laillisena vaihtoehtona markkinoiduista päihteistä.

Väärinkäytetyillä aineilla on yleensä palkitsevia vaikutuksia (esim. mielihyvä), jotka motivoivat yksilöä käyttämään ainetta yhä uudestaan, jolloin voi kehittyä päihderiippuvuus. Aineiden väärinkäyttö- ja riippuvuuspotentiaalia voidaan ennustaa mallintamalla palkitsevia

vaikutuksia erilaisilla käyttäytymiskokeilla, joista ehdollistettu paikkahakuisuus ja itseannostelu ovat käytetyimmät. Käytännössä kaikkien ihmisten väärinkäyttämien aineiden on todettu aiheuttavan ehdollistettua paikkahakuisuutta (Carr ym., 1989).

Riippuvuuden taustalla vaikuttaa olevan mekanismeja, jotka ovat elintärkeitä yksilön ja lajin säilymiselle, sillä esim. paikkahakuisuutta aiheuttavat myös luonnolliset palkitsevat ärsykkeet, kuten ruoka, juoma, sokeri, seksuaalinen kiihottuminen ja sosiaalinen kanssakäyminen. Dopamiini lienee riippuvuuden kehittymisen kannalta keskeisin hermovälittäjäaine, sillä palkitsevat ärsykkeet aktivoivat aivojen mesokortikolimbistä dopaminergistä järjestelmää.

**Kuva 1.1** Amfetamiinin, BZP:n ja MDMA:n kemialliset rakenteet



## 2 MOTIVAATIO JA PÄIHDERIIPPUVUUS

Motivaatio on vietti, joka pitää yllä jotakin toimintoa. Esimerkiksi ravinnon hankinta ja lisääntyminen ovat lajin ja yksilön säilymiselle välttämättömiä toimintoja, joiden suorittamiseen yksilön on tärkeää olla motivoitunut. Aina motivaatio ei kuitenkaan palvele yksilöä, vaan se voi kohdistua myös vahingollisiin toimintoihin, kuten toistuvaan ja pakonomaiseen päihtymyksen tavoitteluun. Päihteet ikään kuin johtavat motivaatiota harhaan aktivoimalla samoja aivoalueita kuin elintärkeät motivoivat toiminnot. Päihderiippuvuus on siis yksi motivoituneen käytöksen muoto.

Yksilöä houkuttelevilla ärsykkeillä on tyypillisesti palkitsevia vaikutuksia. Usein palkitseminen (*reward*) ymmärretään suppeasti yksinomaan mielihyvävaikutuksiksi. Toisinaan sillä kuitenkin tarkoitetaan laajemmin muitakin ärsykkeen motivoivia ja houkuttelevia piirteitä (Bardo ja Bevins, 2000; Carr ym., 1989), sillä käytännössä mielihyvän erittelemisen muista houkuttelevista vaikutuksista voi olla hankalaa. Ärsykkeen mahdolliset epämiellyttävät, eli rankaisevat ominaisuudet aiheuttavat aversiota, eli välttämiskäyttäytymistä. Seuraavassa käydään läpi riippuvuuden taustalla olevan motivaation syntymiselle ja ylläpysymiselle keskeisiä mekanismeja.

### 2.1 Vahvistaminen

Vahvistaminen (*reinforcement*) on ilmiö, jossa jonkin toiminnon suorittaminen lisää sen todennäköisyyttä vastaisuudessa. Palkitsemiseen johtavan toiminnon lisääntymistä kutsutaan positiiviseksi vahvistamiseksi, kun taas negatiivisella vahvistamisella tarkoitetaan sellaisen toiminnon lisääntymistä, jolla vältetään rangaistusta.

Fyysisen riippuvuuden merkitystä korostavissa teorioissa päihteen käytön uskotaan jatkuvan negatiivisen vahvistamisen kautta siten, että vieroitus päihteestä (tai muusta riippuvuutta aiheuttavasta ärsykkeestä) aiheuttaa niin epämiellyttäviä oireita, että niiden välttämiseksi käyttö jatkuu, vaikkei siitä seuraa hyvinvointitunnetta. Alunperin ajatus vieroitusoireiden välttämisestä riippuvuuden taustalla esitettiin opiaattiriippuvuuden yhteydessä (Lindesmith, 1938).

Negatiivinen vahvistaminen ei kuitenkaan selitä, miksi päihteen toistuva käyttö alunperin ylipäättään alkaa, tai miksi retkahduksia tapahtuu vielä pitkänkin ajan kuluttua käytön lopettamisesta. Retkahdukset saattaisivat tosin olla selitettävissä sillä, että negatiivinen vahvistaminen heikkenisi ajan myötä. Vieroitusoireiden hoito ei myöskään ole vastoin negatiiviseen vahvistamiseen perustuvia odotuksia osoittanut yksinään kovin toimivaksi riippuvuuden hoitomuodoksi. Lisäksi vieroitusoireita voivat aiheuttaa varsinaista riippuvuutta aiheuttamattomatkin aineet, kuten masennuslääkkeet (Haddad, 1999).

Riippuvuus voidaan nähdä myös pakonomaisena mielihyvän hakemisena, jossa päihteen käyttö lisääntyy positiivisen vahvistamisen kautta. Positiivinen vahvistaminen ei kuitenkaan selitä, mikä laukaisee pakonomaisen mielihyvëntarpeen (Robinson ja Berridge, 1993), tai miksi käyttö jatkuu senkin jälkeen, kun se ei välttämättä enää aiheuta mielihyvää. Kaikki riippuvuutta aiheuttavat aineet eivät sitä paitsi ylipäättään aiheuta mielihyvää; esimerkiksi tupakointi aiheuttaa usein käytön alkuvaiheessa suorastaan epämiellyttäviä tuntemuksia.

Uudempi teoria yhdistää positiivisen ja negatiivisen vahvistamisen sykliksi, jossa päihtenhimo ja retkahdukset vuorottelevat vieroitusoireiden kanssa. Tuloksena on mielihyvän homeostaasin järkkyminen, eli mielihyvän allostaaasi (Koob ja Le Moal, 1997). Kroonisesti heikentyneen mielialan korjaamiseksi yksilö jatkaa päihteen käyttöä, kunnes käyttö lopulta riistäytyy kokonaan käsistä. On esitetty myös itselääkintähypoteesi, jonka mukaan masennuksella ja päihderiippuvuudella olisi neurobiologisia yhteneväisyyksiä (Markou ym., 1998). Epäselvänä kuitenkin pidetään, olisivatko sairaudet saman häiriön eri oireita, vai voisivatko päihteet aiheuttaa masennusta.

## **2.2 Ehdollistuminen**

Ehdottomat ärsykkeet (esim. ruoka, juoma tai päihde) ohjaavat yksilön käyttäytymistä aiheuttamalla tietynlaisen vasteen (esim. syljeneritys tai liikeaktiivisuuden kasvu). Vaste on tällöin vaistomainen eikä vaadi yksilöltä oppimista. Klassinen, eli pavlovilainen ehdollistuminen on oppimistapahtuma, jossa ehdoton ärsyke assosioituu johonkin ympäristöärsykkeeseen (esim. tietty ääni, haju tai seura). Oppimisen seurauksena alunperin

neutraali ympäristöärsyke muuttuu ehdolliseksi ärsykkeeksi, joka voi ohjata käyttäytymistä ehdottoman ärsykkeen tavoin. Esimerkiksi ruumiinlämpö voi nousta ympäristössä, jonka yksilö on tottunut yhdistämään ruuminlämpöä nostavaan aineeseen (Cunningham, 1993). Operantissa ehdollistumisessa, eli väline-ehdollistumisessa yksilö oppii yhdistämään jonkin suorittamansa toiminnon ehdottomaan ärsykkeeseen, jolloin toiminta muuttuu ehdolliseksi ärsykkeeksi. Assosiatiiivinen oppimistaito lienee keskeinen yksilön kyvyille ennakoita ympäristöään ja erottaa kausaalisuhteita.

Ehdollistumisen oppimisvaiheessa (*acquisition*) ehdoton ja ehdollinen ärsyke ovat molemmat läsnä, jolloin niiden assosioituminen toisiinsa pääsee tapahtumaan. Ilmenemisvaiheessa (*expression*) on läsnä vain ehdollinen ärsyke, joka nyt laukaisee alunperin ehdottomalle ärsykkeelle ominaisen vasteen. Jos ehdoton ärsyke on vaikutuksiltaan palkitseva, se toimii positiivisena vahvisteena ja saa ehdollistumisen tapahtuttua yksilön hakeutumaan ehdollisen ärsykkeen vaikutuspiiriin. Aversiivinen ärsyke puolestaan saa yksilön välttämään ehdollista ärsykettä negatiivisen vahvistamisen kautta. Ajan myötä ehdollistuminen voi sammua (*extinction*), mutta se voi myös jäädä pysyväksi. Sattuminen ei muistuta mekanismiltaan unohtamista, vaan pikemmin uuden oppimista.

Ehdollistumisella arvellaan olevan suuri merkitys päihderiippuvuuden kehittymisessä sekä sen säilymisessä, ja erityisesti päihdehimo ja retkahdukset voidaan selittää ehdollistumisella (Berridge ja Robinson, 1998; Di Chiara, 1998, 1999; Robinson ja Berridge, 1993; Stewart ym., 1984; Wise ja Bozarth, 1987). On esitetty, että ehdollisen ärsykkeen aiheuttama vaste muistuttaisi joko päihteen aiheuttamia vieroitusoireita (Siegel, 1988) tai sen mielihyvävaikutuksia (Stewart ym., 1984). Yksilö myös saattaa ehdollistumisen seurauksena vain alkaa kokea ehdollisen ärsykkeen erityisen tärkeäksi itselleen ilman, että se aiheuttaisi mitään muita subjektiivisia vaikutuksia (Robinson ja Berridge, 2000), mikä selittäisi pakonomaisen päihteenhimon ilman koettua nautintoa (*wanting* vs. *liking*). Ehdollistuminen voisi siis kohdistua myös puhtaasti motivaatioon eikä välttämättä niinkään päihteen suoriin vaikutuksiin. Esimerkiksi suonensisäisesti päihteitä käyttävät riippuvaiset saattavat annostella itselleen vaikka vesi-injektioita tai hakeutua tarkoituksella verikokeisiin, joissa saavat tuntea neulanpiston suoneen. Myös ns. lumevaikutus, jossa yksilö kokee päihtyvänsä luullessaan nauttineensa päihdettä, lienee selitettävissä ehdollistumisella.

### 2.3 Tottuminen ja herkistyminen

Tottuminen, eli toleranssi sekä herkistyminen, eli sensitisaatio ovat toisilleen vastakkaiset tapahtumat. Tottumisella tarkoitetaan toistuvan päihteen annostelun aiheuttaman sietokyvyn kasvua ja herkistymisellä puolestaan sen heikentymistä. Tottuminen siis ilmenee vähentyneenä vasteena tietylle annokselle, kun taas herkistyminen korostaa päihteen vaikutuksia. Tyypillisesti päihteen tauotta jatkuva annostelu johtaa tottumiseen, kun taas herkistyminen syntyy ajoittain toistuvan käytön seurauksena (Robinson ja Becker, 1986). Toisaalta herkistymistä ja tottumista voi tapahtua samanaikaisestikin siten, että osa päihteen vaikutuksista kasvaa, ja osa lievenee.

Ihmisillä päihteen aiheuttama tottuminen on selvästi todettu ilmiö, joka ilmenee erityisesti kasvavina päihdeannoksilla. Herkistymistä on havaittu mm. stimulanttinen aiheuttamille psykoottisille oireille (Sato ym., 1983) sekä amfetamiinin aiheuttamalle stimulaatiolle (Strakowski ja Sax, 1998; Strakowski ym., 1996). Sillä uskotaan olevan merkitystä eritoten retkahduksissa sekä päihtymyshakuisen käytöksen aktivoitumisessa. Jokainen päihdeannos voi entisestään vahvistaa motivaatiota seuraavan annoksen nauttimiseen, mikä voi lopulta johtaa hallitsemattomaan haluun käyttää päihdettä (Di Chiara, 1998; Robinson ja Berridge, 1993, 2000).

### 2.4 Lokomotorinen aktiivisuus

Lokomotorisella aktiivisuudella tarkoitetaan koe-eläinten liikeaktiivisuutta, jossa tapahtuu liikkumista paikasta toiseen. On esitetty, että kaikki riippuvuutta aiheuttavat aineet lisäävät lokomotorista aktiivisuutta ainakin pienillä annoksilla (Wise ja Bozarth, 1987). Tämän teorian mukaan aktiivisuuden kasvun ja positiivisen vahvistamisen uskotaan olevan keskenään homologisia, mikä tarkoittaa, että niillä olisi sama biologinen mekanismi (Wise, 1988; Wise ja Bozarth, 1987). Näin ollen yksilöä houkuttelevat ärsykkeet, jotka lisäävät lokomotorista aktiivisuutta, ovat positiivisia vahvisteita.

Selvimmän lokomotorisen aktiivisuuden lisääntyminen on havaittavissa stimulanttien, kuten amfetamiinin, kokaiinin ja kofeiinin, sekä nikotiinin kohdalla. Keskushermostoa lamaavat

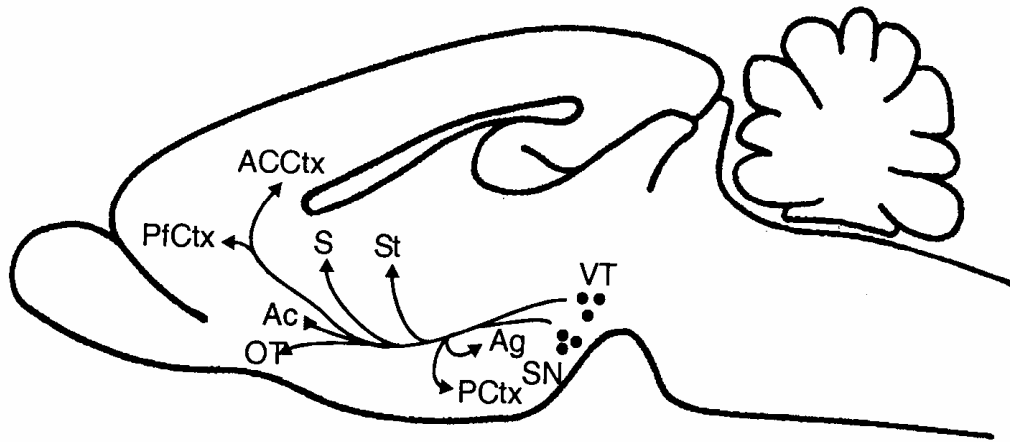
yhdisteet, kuten alkoholi, opiaatit, kannabis sekä uni- ja rauhoittavat lääkkeet, puolestaan ovat vaikutuksiltaan kaksijakoisia: pienillä annoksilla ne lisäävät aktiivisuutta, kun taas suuremmilla annoksilla lamaavat vaikutukset hallitsevat (Babbini ym., 1979).

## 2.5 Dopamiini ja päihderiippuvuus

Tämänhetkisen tietämyksen perusteella riippuvuuden kannalta keskeisin välittäjäaine on dopamiini, joskin ainakin esimerkiksi serotoniinilla (5-HT), gamma-aminovoihapolla (GABA) ja glutamaatilla on myös oma merkityksensä. Tässä käsitellään tarkemmin vain dopaminergisiä mekanismeja, koska tehdyssä tutkimuksessa selvitettiin nimenomaan niitä.

Dopaminergisiä soluja on aivoissa suhteellisen vähän. Suunnilleen puolet niistä sijaitsee ventraalisessa tegmentumissa (VT), ja toinen puolet mustatumakkeessa (*substantia nigra*). VT:sta lähtevät limbiselle aivokuorelle nousevat mesokortikaaliset sekä limbisille alueille nousevat mesolimbiset radat, jotka yhdessä muodostavat mesokortikolimbisen dopaminergisen radaston. Nigrostriataalinen rata kulkee mustatumakkeesta aivojuovion (*striatum*) alueelle. Nämä pitkät dopaminergiset radat on esitetty Kuvassa 2.1. Lisäksi aivoissa on useita lyhyempiä dopaminergisiä hermoratoja.

Dopamiinireseptorit voidaan farmakologisesti jakaa kahteen perheeseen. Dopamiini-1-, eli D1-reseptoriperheeseen kuuluvat D1- ja D5-reseptorit, joista jälkimmäisiä on vain vähän. D1-reseptoreja löytyy aivojen dopaminergisten hermoratojen päätealueilta; erityisen runsaasti niitä on akkumbens-tumakkeessa, hajukäämissä ja mantelitumakkeessa (*amygdala*) sekä jonkin verran myös aivojuoviossa, aivotursossa (*hippocampus*) ja hypotalamuksessa. Ne sijaitsevat dopaminergiseen hermosoluun nähden postsynaptisesti ja säätelevät siten muiden solujen aktiivisuutta. VT:ssa ei ole D1-reseptoreja. Dopamiini-2-, eli D2-reseptoriperheeseen kuuluvat D2-, D3- ja D4-reseptorit, joista ensimmäisenä mainitut muodostavat suurimman osan perheestä. D2-reseptorit voivat olla postsynaptisia tai autoreseptoreja. Postsynaptiset D2-reseptorit sijaitsevat enimmäkseen akkumbens-tumakkeessa ja hajukäämissä, ja pienemmissä määrin myös mantelitumakkeessa, aivotursossa ja hypotalamuksessa. D2-autoreseptorit sijaitsevat enimmäkseen VT:ssa.



**Kuva 2.1** Rotan aivojen pitkät dopaminergiset hermoradat. Lyhenteet: (Ac) akkumbens-tumake; (ACctx) anteriorinen singulaattiaivokuori; (Ag) mantelitumake; (OT) hajukäämi; (PCtx) pyriforminen aivokuori; (PfCtx) prefrontaalinen aivokuori; (S) *septum*; (SN) mustatumake; (St) aivojuovio; (VT) ventraalinen tegmentumi. Kuva lainattu ja muokattu (Cooper ym., 1996).

Positiiviset vahvisteet aktivoivat mesokortikolimbistä dopaminergistä rataa, kun taas negatiiviset vahvisteet vaimentavat sitä. Eläinkokeissa on havaittu motivaatio erityisesti toimintoihin, jotka vapauttavat dopamiinia akkumbens-tumakkeessa. Vahvistamisen taustalla täytyy silti olla muitakin mekanismeja, sillä esimerkiksi sähköisissä itsestimulaatiokokeissa on todettu, ettei kaikilla itsestimuloiduilla aivoalueilla ole yhteyksiä keskiaivojen dopaminergiseen järjestelmään (Bear ym., 2001).

Riippuvuutta aiheuttavat aineet aktivoivat mesokortikolimbistä dopaminergistä rataa huomattavasti voimakkaammin kuin ns. luonnolliset vahvisteet (Di Chiara, 1999). Järjestelmä sopeutuu krooniseen yliaktivaatioon vähentämällä dopamiinireseptoreja, mikä osaltaan selittää toleranssin ja vieroitusoireiden synnyn. Toleranssi on siis elimistön sopeutuma päihteen vaikutusten kumoamiseksi, kun taas vieroitusoireet ovat tämän kumoamisen ylilyönti. Välittömän palkitsevuuden lisäksi dopamiinilla lienee keskeinen rooli ns. herättävissä vaikutuksissa (*“arousal effects”*), jotka auttavat yksilöä ennakoimaan palkitsevia vaikutuksia, millä lienee merkitystä esimerkiksi herkistymisessä ja ehdollistumisessa (Bear ym., 2001).

Mesokortikolimbisen radan aktivaation ajateltiin pitkään aiheuttavan mielihyvää, jota tavoitellakseen yksilö on motivoitunut suorittamaan palkitsevia toimintoja. Sittemmin on kuitenkin osoitettu, että motivaation taustalla saattaa mielihyvän tavoittelun ohella olla myös tarpeen tyydyttäminen, jolloin toiminnon haluaminen ei välttämättä edellytä siitä nauttimista (*wanting* vs. *liking*).

### 3 KÄYTTÄYTYMISKOKEET RIIPPUVUUDEN MALLINTAMISESSA

Riippuvuustutkimus on tärkeää toimivien hoitokeinojen kehittämiseksi, ja lisäksi riippuvuuden mekanismien selvittäminen auttaa ymmärtämään paremmin myös muita motivoituneen käyttäytymisen muotoja. Mm. aivojen kuvantamismenetelmät sekä solu- ja kudosisjelytekniikat tarjoavat arvokkaita mahdollisuuksia riippuvuuden biologisen pohjan tutkimukselle. Riippuvuuden monimutkaisten käyttäytymismekanismien selvittäminen ei kuitenkaan ole niiden avulla mahdollista. Ihmisiä ei käytännöllisistä eikä eettisistä syistä voida käyttäytymiskokeissa käyttää, joten kokeet suoritetaan eläimillä. Riippuvuuden mallintaminen koe-eläimillä on kuitenkin mutkikasta, koska eläimillä ei luonnostaan esiinny riippuvuutta, riippuvuudelle ei ole mitään selkeää mittaa, eivätkä eläimet pysty kuvailemaan tuntemuksiaan.

Luonnossa ei esiinny varsinaisia riippuvuussairauksia, vaikka eläimet saattavatkin tarkoituksella nauttia päihdyttäviä aineita esimerkiksi kasvien mukana. Riippuvuus on yksinomaan ihmiskulttuurin ilmiö, jonka lienevät osaltaan mahdollistaneet mm. pähteiden modernit nauttimistavat. Esim. suonensisäisesti annosteltu, synteettinen aine on huomattavasti voimakkaampi ärsyke kuin vaikkapa kasvinosasta ruuansulatuskanavan kautta imeytynyt luonnollinen aine. Tutkittavat pähteet annostellaankin koe-eläimille usein nimenomaan injisoimalla.

Riippuvuudelle ei ole selkeää mittaa, eivätkä eläimet kykene kuvailemaan tuntemuksiaan, joten on täsmällisempää määritellä käyttäytymiskokeiden mittaavan palkitsevuuden eri ulottuvuuksia kuin suoraan itse riippuvuutta. Käyttäytymiskokeissa saadut tulokset kuitenkin korreloivat erittäin hyvin ihmisillä havaitun käyttäytymisen kanssa, joten kokeissa mitattavien pähteiden palkitsevien ominaisuuksien voidaan arvioida heijastavan hyvin niiden väärinkäyttö- ja riippuvuuspotentiaalia.

#### 3.1 Kallonsisäinen itsestimulaatio

Kallonsisäisen itsestimulaation (*intracranial self-stimulation*) avulla voidaan epäsuorasti mitata pähteiden palkitsevia ominaisuuksia asentamalla leikkauksen avulla elektrodit tietyille

aivoalueille. Leikkauksesta toipumisen jälkeen eläimet opetetaan stimuloimaan aivojaan esimerkiksi vipua painamalla; menetelmä perustuu siis väline-ehdollistumiseen. Kallonsisäisen itsestimulaation etuna on, että saadaan paikannetuksi vahvistamisen kannalta olennaisia aivoalueita. Menetelmä on kuitenkin leikkauksineen ja opettamisineen varsin työläs.

Joillekin aivoalueille, kuten lateraaliseen hypotalamukseen, asetettujen elektrodien ärsyttäminen on positiivisesti vahvistavaa, eli eläin painaa vipua uupumukseen saakka laiminlyöden syömisen ja juomisen. Menetelmää on käytetty ensisijaisesti vahvistamisen kannalta keskeisten aivoalueiden ja hermoratojen paikantamiseen, mutta jonkin verran myös päihdetutkimukseen. Useiden ihmisten väärinkäyttämien pähteiden on todettu entisestään vahvistavan itsestimulaatiota, minkä uskotaan heijastavan aineiden palkitsevia vaikutuksia (Lewis, 1993).

Ihmisilläkin on pystytty tekemään joitakin itsestimulaatiokokeita sellaisten aivoleikkauksien aikana, joissa potilaan on oltava tajuissaan. Niissä ihmisten on todettu mielihyvää tuottavien alueiden lisäksi itsestimuloivan helposti alueita, jotka tuottavat esimerkiksi tuntemuksia kuin olisi pian muistamassa jotakin oleellista tai saamassa orgasmin (Bear ym., 2001). Nämä tuntemukset saatetaan kokea jopa turhauttavina pikemmin kuin selvästi mielihyvää aiheuttavina, mikä kuvastaa hyvin sitä, ettei välttämättä ole mielekästä käyttää mielihyvää palkitsevien vaikutusten synonyyminä.

### 3.2 Itseannostelu

Itseannostelu (*self-administration*) muistuttaa paljon kallonsisäistä itsestimulaatiota, sillä sekin perustuu väline-ehdollistumiseen. Menetelmässä koe-eläin opetetaan suorittamaan jokin toiminto, esimerkiksi vivun painallus, päihdeannoksen saamiseksi. Useimmiten annostelu tapahtuu suonensisäisesti, mutta muutkin annostelutavat ovat mahdollisia (Meisch ja Lemaire, 1993; Stoleran, 1992). Mikäli päihdeannokseen assosioitu toiminto alkaa lisääntyä, tulkitaan aineen olevan positiivisesti vahvistava. Menetelmällä voidaan mitata sekä aineen ehdottomia että ehdollisia vahvistavia ominaisuuksia (Markou ym., 1993). Se lienee suurin pähteiden positiivisesti vahvistavia ominaisuuksia mittaava menetelmä.

Eläinten on todettu itseannostelevan lähes kaikkia ihmisten väärinkäyttämiä aineita, ja menetelmää pidetään hyvin validina (Markou ym., 1993). Menetelmällä voidaan myös tutkia annostelutavan mahdollista vaikutusta päihteen palkitsevuuteen, mitä pidetään etuna, koska ihmiset annostelevat väärinkäyttämäänsä aineita useilla eri tavoilla (Meisch ja Lemaire, 1993). Kallonsisäisen itsestimulaation tavoin itseannostelu on kuitenkin työläs menetelmä, sillä se vaatii leikkaustoimenpiteitä ja eläinten opettamista. Myös tulosten tulkinta voi toisinaan hankalaa, sillä lisääntynyt itseannostelu voi johtua aineen palkitsevuuden lisäksi myös sen liikeaktiivisuutta lisäävästä vaikutuksesta. Oletettavasti myös toleranssin synty saattaa lisätä itseannostelua.

### 3.3 Ehdollistettu paikkahakuisuus

Ehdollistettu paikkahakuisuus (*conditioned place preference*) on klassiseen ehdollistumiseen perustuva menetelmä, jossa koe-eläin opetetaan yhdistämään päihteen vaikutukset tiettyyn ympäristöön. Tämän jälkeen seurataan, onko eläin alkanut suosia tätä ympäristöä, eli aiheuttaako tutkittava päihde ehdollistettua paikkahakuisuutta.

Koe suoritetaan yleensä kaksipuolisessa laatikossa, jonka puolet eroavat toisistaan usealla tavalla esim. värin, hajun ja valaistuksen suhteen. Usein eläimen annetaan ennen varsinaista koetta tutustua koelaatikon molempiin puoliin siten, että se saa vapaasti liikkua niiden välillä. Tällöin voidaan myös mitata pohja-ajat sille, kuinka hyvin eläin lähtökohtaisesti viihtyy kummallakin puolella. Jos eläimet eivät alunperin keskimäärin suosi kumpaakaan puolta, kutsutaan koeasetelmaa harhattomaksi (*unbiased*), kun taas jos eläimet suosivat alussa jompaa kumpaa puolta, on kyseessä harhainen (*biased*) koeasetelma.

Kokeen ehdollistamisvaiheessa, joka vastaa ehdollistumisen oppimisvaihetta, kulku koelaatikoiden puolten välillä on estetty. Ehdollistaminen tapahtuu siten, että eläimelle annostellaan päihdettä, jonka jälkeen sen annetaan olla laatikon tietyllä puolella, jolloin se oppii yhdistämään aineen vaikutukset tähän laatikon puoleen. Vastaavasti eläimen voidaan antaa olla laatikon toisella puolella siten, että sille on ensin annosteltu lääkkeen vaikuttamatonta kantoainetta, eli vehikkeliä, joka voi olla esimerkiksi saliiniliuosta.

Tasapainottamattomassa (*unbalanced*) koeasetelmassa päihde-ehdollistamispuoleksi valitaan joko eläimen alunperin suosima tai vieroksuma puoli. Tasapainotetussa (*balanced*) asetelmassa puolet eläimistä ehdollistetaan päihteelle preferoidulla puolella ja puolet vieroksutulla puolella. Tasapainottamattomassa asetelmassa syntynyt paikkahakuisuus ei välttämättä ole seurausta päihdehakuisuudesta, mikäli päihde-ehdollistaminen tapahtuu vähemmän preferoidulla puolella. Tällöin paikkahakuisuus voi aiheutua myös aineen anksiolyyttisistä, eli ahdistusta lievittävästä vaikutuksista, jotka saavat eläimen sietämään paremmin aiemmin epämiellyttäväksi kokemaansa ympäristöä. Tällä ei kuitenkaan pitäisi olla käytännön merkitystä kuin tilanteissa, joissa aine aiheuttaa vain lievän, suhteellisen paikkahakuisuuden kasvun aiemmin vieroksutulle puolelle. Absoluuttinen paikkahakuisuuden kasvu ei sitä vastoin voi olla selitettävissä pelkästään tutkittavan aineen anksiolyyttisillä vaikutuksilla (Tzschentke, 1998).

Ehdollistumisen ilmeneminen osoitetaan lopuksi mittaamalla eläimen koelaatikon eri puolilla viettämät ajat. Jos eläin on alkanut merkittävästi suosia tutkittavaan aineeseen yhdistettyä puolta, aine aiheuttaa ehdollistettua paikkahakuisuutta, jonka oletetaan heijastavan aineen palkitsevia vaikutuksia.

Käytännössä kaikkien ihmisten väärinkäyttämien aineiden on todettu aiheuttavan ehdollistettua paikkahakuisuutta. Tulokset korreloivat myös kutakuinkin täydellisesti itseannostelukokeiden tulosten kanssa (Carr ym., 1989), joskin keskushermostolliset mekanismit näiden menetelmien taustalla saattavat poiketa toisistaan (Bardo ja Bevins, 2000). Paikkahakuisuuskoe ei vaadi kirurgisia toimenpiteitä, ja mittauksen aikana eläin ei ole tutkittavan aineen vaikutuksenalainen, joten aineen akuutit vaikutukset eivät pääse vääristämään mittaustuloksia. Kokeen avulla voidaan todeta myös mahdolliset aversiiviset vaikutukset, eikä tutkittavan ärsykkeen ole välttämättä oltava nimenomaan päihde tai lääke, vaan se voi olla myös esim. ruoka tai juoma (Bardo ja Bevins, 2000; Carr ym., 1989; Schechter ja Calcagnetti, 1993).

Ehdollistetun paikkahakuisuuskokeen heikkoutena ovat lukuisat variaatiot koeasetelmissa, jotka heikentävät tulosten vertailukelpoisuutta. Menetelmä on myös varsin herkkä ulkoisille häiriöille, kuten äänille ja hajuille. Lisäksi edellä mainittujen mahdollisten anksiolyyttisten vaikutusten ohella ehdollistetun paikkahakuisuuden syntyyn saattavat vaikuttaa myös

tutkittavan aineen muistitoimintoja heikentävät vaikutukset. Tällöin eläin ei välttämättä muista päihde-ehdollistumisympäristöä hyvin ja kokee sen uutena, jolloin syntyvä paikkahakuisuus ei välttämättä johdukaan päihde-, vaan uutuushakuisuudesta (“*novelty seeking*”), (Carr ym., 1989; Schechter ja Calcagnetti, 1993; Tzschentke, 1998).

### 3.4 Tunnistusärsykekoe

Tunnistusärsykekoe (*drug discrimination*) on väline-ehdollistumiseen perustuva menetelmä, jossa koe-eläimet totutetaan vaikkapa ruokaa saadakseen suorittamaan tietty toiminto (esim. vivun painallus) huumeannoksen jälkeen ja jokin eri toiminto saliiniannoksen jälkeen. Jos eläin oppii näin erottamaan huumeen saliinista, eli reagoimaan aineiden annosteluun toisistaan poikkeavasti, huumeen todetaan toimivan tunnistusärsykkeenä. Kykyä toimia tunnistusärsykkeenä pidetään riippuvuutta aiheuttavien aineiden keskeisenä ominaisuutena (Goudie ja Leathley, 1993).

Menetelmä on käyttökelpoinen varsinkin tutkittaessa uusien lääkeaineiden mahdollista addiktiopotentiaalia. Tutkittavaa lääkettä voidaan annostella koe-eläimelle, joka on oppinut erottamaan jonkin tunnetun riippuvuutta aiheuttavan aineen saliinista. Jos eläin reagoi siihen samoin kuin jo tunnettuun aineeseen, myös tutkittavalla aineella voidaan otaksua olevan väärinkäyttöpotentiaalia.

## 4 1-BENTSYYLIPERATSIINI

### 4.1 Historia

BZP syntetisoitiin alunperin matolääkkeeksi, mutta pian havaittiin, että se estää hiirillä dopamiinisalpaaja tetrabenatsiinin lamaavia vaikutuksia (Miller ym., 1971). Farmakologisissa tutkimuksissa aineilla, jotka estävät tetrabenatsiinin ja muiden vastaavien yhdisteiden vaikutuksia, uskottiin olevan antidepressiivisiä vaikutuksia. Lääkeyhtiö Wellcome alkoi tutkia BZP:a mahdollisena uutena masennuslääkkeenä. BZP:n kuitenkin oli myös havaittu aktivoivan eläimiä amfetamiinin tavoin, joten ennen jatkotutkimuksia haluttiin selvittää, muistuttavatko sen vaikutukset ihmisilläkin amfetamiinia. Koska vapaaehtoisilla koehenkilöillä suoritettavat kokeet osoittivat aineilla olevan yhtäläisiä vaikutuksia, BZP:n kehittelystä masennuslääkkeeksi luovuttiin (Bye ym., 1973; Campbell ym., 1973).

Sittemmin BZP kuitenkin osoittautui unkarilaisen lääkeyhtiön kehittelemän masennuslääkkeen, piberaliinin (EGYT-475; 1-bentsyylipiperatsiinipikolinyyliumaraatti) tehokkuuden taustalla olevaksi aktiiviseksi metaboliitiksi (Magyar ym., 1986). Tuolloin etsittiin vilkkaasti uusia masennuksen hoitoon käyttökelpoisia lääkkeitä, joilta puuttuisivat trisyklisten antidepressanttien (TCA) hankalat haitat, kuten sedaatio ja akuutti toksisuus.

Piberaliinin todettiin estävän reserpiinin aiheuttamaa dopamiinin vähenemistä ja sen metaboliatuotteen 3,4-dihydroksifenyylietikkahapon (DOPAC) lisääntymistä rotan hajukäämissä (Fekete ym., 1980). TCA:ista poiketen piberaliini ei estänyt pelon motivoimaa välttämiskäyttäytymistä rotilla, vaan pikemminkin vahvisti sitä (Telegdy ym., 1983). Tämän epäiltiin merkitsevän, että TCA:t heikentäisivät muistia, kun taas piberaliini parantaisi sitä.

Useissa tutkimuksissa (Magyar ym., 1986; Malomvolgyi ym., 1991; Szoko ym., 1987; Szucks ym., 1987; Tekes ym., 1987) havaittiin, että piberaliini oli itsessään tehoton, ja että sen metaboliitti BZP ilmeisesti aiheutti kaikki antidepressiiviset vaikutukset. BZP:n vaikutukset osoittautuivat kovin samanlaisiksi kuin 3-klorofenyylipiperatsiinin (m-CPP), joka on tratsodonin aktiivinen metaboliitti. Piberaliinin tavoin aryylipiperatsiineihin kuuluva

tratsodoni on edelleen käytössä oleva masennuslääke. m-CPP puolestaan esiintyy BZP:n tavoin päihdekäytössä nykyään (de Boer ym., 2001).

Kliinisen lääketutkimuksen alkuvaiheessa piberaliinin havaittiin olevan ihmisillä ja rotilla hyvin siedetty, mutta koirilla ei (Magyar, 1987). Tämä johtui ilmeisesti siitä, että koirilla aineen pääasiallinen elimaatioreitti on hydrolyysi, kun taas rotilla ja ihmisillä se on debentsylaatio. Jälkimmäisessä tapauksessa syntyvä BZP metaboloituu edelleen, kun taas ensimmäisessä ei, mikä selittää haittavaikutukset. Magyar ym. (1987) kokeilivat myös, josko BZP olisi toimiva masennuslääke. Osoittautui kuitenkin, että BZP aiheutti rotilla enemmän haittavaikutuksia kuin piberaliinin farmakologisilta vaikutuksiltaan vastaava annos. Lääkekokeita päädyttiin siis jatkamaan piberaliinilla.

Lähteiden perusteella on epäselvää, mihin piberaliinin (ja siten myös BZP:n) tutkimus masennuslääkkeenä päättyi, ja ehdittiinkö sitä lopulta käyttää laajasti. Epäselvää on sekin, miksi piberaliinin kehittelyä masennuslääkkeeksi jatkettiin, vaikka sen metaboliitiksi tiedettiin BZP, jonka väärinkäyttöpotentiaalia oli ennustettu jo 1970-luvulla (Bye ym., 1973; Campbell ym., 1973). Ehkä piberaliinin tutkijat eivät yksinkertaisesti olleet tietoisia aiemmista tutkimuksista, sillä heidän artikkeleistaankaan ei löydy niihin viittauksia. Tällainen voisi kuviteltavasti selittyä sillä, ettei aiemmin ollut yhtä toimivia ja kattavia tiedonhakupohjaisia järjestelmiä kuin nykyään.

## 4.2 Esiintyvyys ja lainsäädäntö

Suomessa BZP:a takavarikoitiin vuosina 2002-2004 neljä kertaa (Keskusrikospoliisi, 2003, 2005), eikä täällä tällä hetkellä ole BZP:a koskevaa lainsäädäntöä. Ruotsissa BZP:a havaittiin ensimmäistä kertaa vuonna 1999, ja vuoden 2003 loppuun mennessä löydöksiä oli yhteensä 56, joista useat tehtiin vankilassa. Aine kiellettiin Ruotsissa vuonna 2003 (Wikstrom ym., 2004).

Yhdysvaltojen ensimmäinen BZP-takavarikko tehtiin vuonna 1996 Kaliforniassa, jonka jälkeen käyttö lisääntyi, ja aine levisi nopeasti myös muihin osavaltioihin. Se luokiteltiin ensin väliaikaisesti (Drug Enforcement Administration, 2002) ja sitten pysyvästi (Drug

Enforcement Administration, 2004) kuuluvaksi Yhdysvaltojen huumausaineluetteloon. Myös osa Australian osavaltioista on luokitellut BZP:n huumeeksi (Expert Advisory Committee on Drugs, 2004).

Uuden-Seelannin Terveysministeriössä puolestaan pohditaan parhaillaan BZP:n laillista asemaa osana WHO:n ja YK:n suositusten mukaista haittojen vähentämiseen tähtäävää päihdepolitiikkaa (Expert Advisory Committee on Drugs, 2004). BZP:a saa tällä hetkellä myydä maassa elintarvikkeena, mikä tultaneen kieltämään, mutta sen sijaan on ehdotettu muodostettavaksi uutta valvottua päihdeluokkaa, johon BZP voisi kuulua. Tätä on perusteltu käyttäjien ja yhteiskunnan kannalta vähäisemmällä terveydellisillä ja taloudellisilla haitoilla, sillä osa päättäjistä ja asiantuntijoista näkee BZP:n turvallisempana vaihtoehtona kuin esim. metamfetamiinin. Ennen lopullista päätöksentekoa halutaan kuitenkin vielä lisää tietoa asiasta.

Päihteiden esiintyvyydestä ylipäättään on mahdotonta tehdä täysin luotettavia johtopäätöksiä, sillä käyttäjät harvemmin raportoivat käytöstään viranomaisille tai asiantuntijoille. Tässä esitetyt luvut on saatu suoraan viranomaislähteistä, ja ne edustanevat vain pientä osaa todellisista luvuista.

### **4.3 Käyttökulttuuri**

BZP:n käytetään yleisimmin osana uutta klubi- ja juhlimiskulttuuria. Sitä myydään yleisimmin tanssiklubeilla ja internetin välityksellä, ja monilta huumeekulttuuriin liittyviltä www-sivustoilta (esim. Erowid) löytyy käyttäjien kuvauksia aineen vaikutuksista. Aine esitellään myös eräillä suomenkielisillä sivustoilla ("Sir Robin", 2003). BZP:a voidaan myydä ekstaasina, mutta usein sitä käytetään myös MDMA:n ohessa, sen laillisena vaihtoehtona tai yhdistelmänä esim. 3-trifluorometyylifenyyli-piperatsiinin (TFMPP) kanssa. Kyseisen yhdistelmän vaikutukset muistuttavat käyttäjien mukaan enemmän MDMA:n kuin amfetamiinin vaikutuksia.

Katukaupassa BZP on useimmiten tablettimuodossa, mutta toisinaan myös jauheena tai nesteenä. Erivärisissä tableteissa on tavattu mm. karpäs-, kruunu-, sydän- ja perhoskuvioita

(Drug Enforcement Administration, 2002). Käyttäjien parissa BZP tunnetaan myös nimillä 'legal E', 'legal X', 'A2' ja 'Nemesis', joista ensimmäiset viittaavat lailliseen "ekstaasiin", ja jälkimmäiset ovat Internetissä myytyjen BZP-valmisteiden kaupanimiä. A2 on myös lyhenne yhdestä BZP:n vaihtoehtoisesta kemiallisesta nimestä, 1-bentsyyli-1,4-DIAZA-sykloheksaanista (Wikstrom ym., 2004). Huumekulttuuriin liittyvien www-sivujen perusteella kerralla nautittu BZP-annos on yleensä 20-100 mg, mutta jopa yli 500 mg:n annoksista löytyy mainintoja. On kuitenkin huomattava, ettei BZP:n puhtaudesta ole varmuutta.

#### **4.4 Fyysiset, psyykkiset ja käyttäytymisvaikutukset**

##### *4.4.1 Psykomotoriset ja subjektiiviset vaikutukset*

Amfetamiinin tavoin BZP:n on havaittu parantavan psykomotorista suorituskkyä, kuten huomiokykyä, reaktionopeutta ja kuulon tarkkuutta vapaaehtoisilla koehenkilöillä tehdyissä kokeissa (Bye ym., 1973).

BZP:n subjektiivisten vaikutusten on osoitettu muistuttavan amfetamiinia, sillä koehenkilöt, jotka olivat entisiä amfetamiiniriippuvaisia, eivät kyenneet erottamaan aineita toisistaan (Campbell ym., 1973). Aineiden vaikutuksia arvioitiin psykiatrisen pisteytyksen ja koehenkilöille teetetyn kyselyn avulla. Tulosten perusteella molempien aineiden vaikutukset olivat selvästi miellyttävämmät kuin lumelääkkeen, ja BZP koettiin jopa hieman amfetamiinia miellyttävämpänä.

Huumekulttuuriin liittyvillä www-sivuilla kuvattujen käyttäjäkokemusten (Erowid, 2004) perusteella BZP aiheuttaa hyvänolontunnetta, virkeyttä ja fyysisen suorituskyvyn parantumista. Sivuvaikutuksina mainitaan mm. pahoinvointi, suun kuivuminen, tihentynyt virtsaaminen, lisääntynyt hikoilu, ruokahalun menettäminen, ruumiinlämmön heilahtelu ja sydämen sykkeen nousu. Vaikutukset kestävät käyttäjien mukaan 6-8 tuntia ja isoilla annoksilla pidempäänkin.

#### 4.4.2 Käyttäytymisvaikutukset koe-eläimissä

Jo 1970-luvulla BZP:n todettiin aiheuttavan hiirille ja rotille amfetamiininkaltaisia käyttäytymisvaikutuksia, kuten hyperaktiivisuutta, pään pakkoliikkeitä sekä reaktioajan lyhenemistä (Miller ym., 1971). Myöhemmin BZP:n on havaittu aiheuttavan rotille pään pakkoliikkeitä ja lisäksi liikeaktiivisuuden kasvua sekä lisääntynyttä kurkottelua ja nuuskimista (Kajos ym., 2004). Lisäksi BZP ilmeisesti vahvistaa pelon motivoimaa välttämiskäytöstä (Telegdy ym., 1983), minkä katsotaan heijastavan muistia parantavia vaikutuksia.

Kokaiinia itseannostelemaan aiemmin harjoitetuilla reesusapinoilla BZP toimi tehokkaana vahvistavana ärsykkeenä (Fantegrossi ym., 2004). Apinat annostelivat BZP:a yhtä paljon kuin aiemmin kokaiinia. BZP:n saannin jo päätyttyä apinat itseannostelivat myös pelkkää suolaliuosta innokkaasti, mikä viittaa melko pitkäkestoisiin käyttäytymisvaikutuksiin. Fantegrossi ym. (2004) osoittivat myös, että tunnistusärsykekokeissa apinat, jotka olivat aiemmin oppineet tunnistamaan amfetamiinin vaikutukset ja reagoimaan niihin vipua painamalla, reagoivat samalla tavalla BZP:iin.

#### 4.4.3 Autonomiset vaikutukset

BZP:n on todettu laajentavan koehenkilöiden pupilleja miltei yhtä paljon kuin tyramiinin (Bye ym., 1973). Samoissa kokeissa BZP:n ja amfetamiinin kardiovaskulaaristen vaikutusten todettiin olevan samanlaisia, sillä molemmat nostivat sekä sydämen sykettä että systolista, mutteivät diastolista verenpainetta. Näiden tulosten perusteella BZP:n otaksuttiin amfetamiinin ja tyramiinin tavoin toimivavan epäsuorana sympatomimeettinä. Epäsuora vaikutus ei kohdistu suoraan reseptoriin, vaan hermopäätteeseen, josta vapautuva välittäjäaine vuorostaan vaikuttaa reseptoriin.

Vain hiukan myöhemmin vuonna 1973 Campbell ym. saivat kokeissaan muuten samanlaisia tuloksia, mutta niiden mukaan myös diastolinen verenpaine nousi, vaikka BZP-annos oli molemmissa kokeissa sama, eli 100 mg. Ero voi olla selitettävissä mm. erilaisilla koeryhmillä: Bye ym. suorittivat kokeensa koehenkilöillä, joiden aiempi päihdehistoria lienee

ollut olematon tai ainakin vähäinen, kun taas Campbellin ym.:n koehenkilöt olivat entisiä amfetamiiniriippuvaisia, joiden syke ja molemmat verenpaineet olivat jo kokeen alussa korkeammat kuin toisilla koehenkilöillä.

#### *4.4.4 Raportoidut vakavat hättävaiikutukset*

Sveitsissä on raportoitu kuolemantapaus, jossa nuori nainen menehtyi ilmeisesti hyponatremiaan ja aivoödeemaan BZP:n ja MDMA:n käytön sekä suuren nestemäärän nauttimisen seurauksena (Balmelli ym., 2001). Vuonna 2002 Ruotsissa löydettiin ruumiinavauksessa nuoren miehen verestä BZP:a ja sen ohessa myös MDMA:a, 3,4-metyleenidioksiamfetamiinia (MDA) sekä kannabista (Wikstrom ym., 2004). BZP:n osuus edellä mainituissa kuolemantapauksissa on kuitenkin epävarma, koska molemmissa oli mukana muita samanaikaisesti nautittuja päihteitä.

Saksassa on raportoitu tapaus, jonka taustalla saattoi olla BZP:n kertakäyttö (Klawe ym., 2001). Nuori mies hakeutui vastaanotolle unettomuuden, levottomuuden, mielialavaihteluiden sekä näkö-, kuulo- ja ajatusharhojen takia. Hänellä todettiin lisäksi laajentuneet pupillit. Seulonnassa ei löydetty merkkejä hiljattaisesta huumeiden käytöstä. Potilas itse kuitenkin muisti oireiden muistuttavan kolme kuukautta aiemmin nauttimansa päihteen vaikutuksia. Toksikologisissa tutkimuksissa päihde osoittautui BZP:ksi, joten sen aiheuttamaa takautta pidettiin mahdollisena selityksenä kuvatuille oireille. Potilaan tila saatiin korjatuksi neurolepti- ja bentsodiatsepiinilääkityksillä. Myös Uudessa-Seelannissa on raportoitu tapaus, jossa nuori mies hakeutui vastaanotolle vainoharhaisten ajatusten sekä näkö- ja kuuloharjojen takia (Austin ja Monasterio, 2004). Hän oli nauttinut BZP:a sekä pienen määrän kannabista ja ilokaasua. Myös tässä tapauksessa potilaan tila parani bentsodiatsepiineilla.

## 4.5 Neurokemialliset vaikutukset

### 4.5.1 Dopaminergiset vaikutukset

BZP:n vaikutukset dopaminergiseen hermojärjestelmään todettiin jo 1970-luvulla, kun aineen havaittiin estävän tetrabenatsiinin vaikutuksia (Miller ym., 1971). Tetrabenatsiini hävittää dopamiinia, ja sitä voidaan käyttää liikehäiriöiden, kuten Huntingtonin taudin tai tardiivin dyskinesian, hoitoon.

Rotat, joiden nigrostriataalista dopaminergista järjestelmää on toispuoleisesti vaurioitettu 6-hydroksidopamiinilla (6-OHDA), reagoivat yleensä dopamiiniagonisteihin alkamalla kiertää vähemmän stimuloitun aivopuoliskon suuntaan (Ungerstedt, 1971). Siitä, mihin suuntaan eläimet alkavat dopamiiniagonistin vaikutuksesta pyöriä akuutisti 6-OHDA-leesion jälkeen – siis ennen kuin vaurioitunut alue on ehtinyt herkistyä – voidaan tehdä päätelmiä agonistin vaikutusmekanismista. Ipsilateraalisen, eli leesioon nähden samaan suuntaan pyörimisen katsotaan aiheutuvan, kun dopamiinia vapautuu varastorakkuloista synapsirakoon. Kontralateraalinen pyöriminen puolestaan aiheutuu dopamiinin vapautumisesta muuta kautta. BZP aiheuttaa amfetamiinin ja metamfetamiinin tavoin kontralateraalista pyörimistä, joten niiden arvellaan vapauttavan dopamiinia muualta kuin varastorakkuloista (Oberlander ym., 1979).

BZP:n on todettu estävän radioleimatun dopamiinin takaisinottoa *in vitro* ja *ex vivo* rotan väliaivojen tyvitumakkeissa (Tekes ym., 1987). BZP:n on lisäksi osoitettu toimivan dopamiinin kuljettajan (DAT) substraattina rotan aivoista eristetyissä synaptosomeissa ja sitä kautta pystyvän vapauttamaan dopamiinia soluista (Baumann ym., 2004). *In vivo* mikrodialyysikokeissa BZP:n on havaittu nostavan solunulkoista dopamiinipitoisuutta rotan aivojen akkumbens-tumakkeessa (Baumann ym., 2004; Ellermaa ym., 2004); tosin MDMA:lla sama vaikutus on noin kolme kertaa voimakkaampi.

#### 4.5.2 Noradrenergiset vaikutukset

BZP:n on osoitettu olevan sympatomimeetti, eli adrenerginen aine, jonka vaikutukset muistuttavat sympaattisen hermoston stimulaatiota. Koska amfetamiini ja tyramiini, joita BZP:n todettiin autonomisilta vaikutuksiltaan muistuttavan, ovat epäsuoria sympatomimeetteja, otaksuttiin BZP:nkin olevan sellainen (Bye ym., 1973).

Kanin keuhkovaltimopreparaatissa BZP:n on todettu lisäävän noradrenaliinin ulosvirtausta soluista sekä sileän lihaksen supistumista (Magyar ym., 1986). Se, että BZP edisti noradrenaliinin vapautumista myös ilman sähköistä ärsytystä, viittasi epäsuoriin tyramiininkaltaisiin vaikutuksiin. Nämä vaikutukset välittynevät noradrenaliinin kuljettajan kautta, sillä ne saatiin estetyiksi kokaiinilla, joka estää noradrenaliinin takaisinottoa. Lisäksi rotan hypothalamuksessa, eli väliaivojen pohjaosassa BZP:n on todettu estävän heikosti noradrenaliinin takaisinottoa sekä *in vitro* että *ex vivo* (Tekes ym., 1987).

Sähköisestä stimulaatiosta aiheutuva välittäjäaineen vapautuminen puolestaan saatiin estetyksi lisäämällä preparaattiin l-noradrenaliinia tai klonidiinia, jotka molemmat aktivoivat  $\alpha_2$ -reseptoreja (Magyar ym., 1986). Nämä presynaptiset autoreseptorit säätelevät noradrenaliinin määrää negatiivisen takaisinkytkennän avulla. L-noradrenaliinin ja klonidiinin vaikutukset estyivät  $\alpha_2$ -antagonisti johimbiinilla. Myös BZP:n uskottiin johimbiinin tavoin salpaavan  $\alpha_2$ -reseptoreja ja siten eliminoivan negatiivisen takaisinkytkennän, mikä johtaa noradrenaliinin lisääntyneeseen ulosvirtaukseen. Szucks ym. (1987) kuitenkin osoittivat, ettei BZP ole  $\alpha_2$ -antagonisti, sillä se ei estä klonidiinin vaikutuksia.  $\alpha_1$ -antagonisti pratsosiini esti BZP:n aiheuttamat sileän lihaksen supistukset sekä sähköisen stimulaation laukaisemat postsynaptiset vasteet (Magyar ym., 1986). BZP saattaa siis toimia  $\alpha_1$ -agonistina.

BZP:n noradrenaliinin ulosvirtausta kiihdyttävät vaikutukset muistuttavat paljon amfetamiinia, mutta erojakin on (Szucks ym., 1987). Rotan aivokuorileikkeissä molemmat aineet vahvistivat kalium-ioneilla laukaistua välittäjäaineen vapautumista. Takaisinoton estäjät kokaiini ja desipramiini kuitenkin estivät tämän vaikutuksen amfetamiinin, mutteivät BZP:n kohdalla.

#### 4.5.3 Serotonergiset vaikutukset

Serotonerginen hermojärjestelmä lienee BZP:n vaikutusten kannalta tutkituin, mikä on ymmärrettävää, koska 5-HT:lla on pitkään ajateltu olevan keskeinen asema masennuksen taudinkuvassa, jonka hoitoon BZP:a aikanaan kaavailtiin.

Tekes ym. osoittivat vuonna 1987, että BZP estää erittäin tehokkaasti radioleimatun 5-HT:n takaisinottoa soluun rotan aivojen hippokampuksessa sekä *in vitro* että *ex vivo*. Samalla BZP:n havaittiin aiheuttavan rotille hypertermiaa ympäristön lämpötilan ollessa korkea, mikä on tyypillinen serotonergisen yliaktiivisuuden merkki. Hypertermia saatiin poistetuksi 5-HT-antagonisti syproheptadiinilla, muttei amitriptyliinillä. Serotonergisten vaikutusten uskottiin välittyvän 5-HT:n kuljettajan (SERT) ja 5-HT<sub>1</sub>-reseptorien inhibition kautta. 5-HT<sub>2</sub>-reseptorien kautta BZP:n vaikutusten ei oletettu välittyvän, sillä BZP:lla ei ollut vaikutusta verihituleiden aggregaatioon, jossa 5-HT<sub>2</sub>-reseptorit ovat keskeisessä roolissa. Rotan mahanpohjukkapreparaatissa BZP:n todettiin toimivan 5-HT-reseptorista riippuen agonistina tai antagonistina (Malomvolgyi ym., 1991). Kokeessa ei kuitenkaan kyetty yksilöimään reseptoreja kunnolla.

Baumann ym. (2004) havaitsivat *in vitro*-kokeissaan, ettei BZP aktivoanut SERT:a vapauttamaan 5-HT:a soluväliin, minkä perusteella aineen vaikutukset eivät näyttäneet välittyvän 5-HT:n avulla. Kuitenkin *in vivo*-kokeissa BZP nosti solunulkoista 5-HT-pitoisuutta suunnilleen yhtä paljon kuin dopamiinipitoisuutta, joten BZP:llä on selvästi serotonergisiä vaikutuksia. Ellermaan ym.:n (2004) kokeissa 5-HT:n solunulkoisen tason nousu *in vivo* oli selvästi vähäisempää kuin dopamiinin.

Baumannin ym. *in vitro*-tulokset näyttävät olevan hiukan ristiriidassa Tekesin ym. tuloksien kanssa, sillä 5-HT:n takaisinottokin tapahtuu SERT:n kautta. Toisaalta voi olla, että BZP vain estää 5-HT:n takaisinottoa lisäämättä kuitenkaan sen vapautumista solusta.

#### 4.6 1-Bentsyyli-piperatsiinin ja 3-trifluorometyylifenyyli-piperatsiinin yhteisvaikutukset

Kuten luvussa 4.2 on mainittu, BZP:ia käytetään yleisesti toisen piperatsiinin, TFMPP:n kanssa. Yhdistelmällä haetaan MDMA:n kaltaisia vaikutuksia, mutta sitä pidetään käyttäjien keskuudessa MDMA:a turvallisempaa vaihtoehtona, joka lisäksi on ainakin toistaiseksi melkein kaikkialla laillinen.

TFMPP:n vaikutukset välittyvät pääosin serotonergisen hermojärjestelmän kautta (Baumann ym. 2004). Sen todettiin vapauttavan selektiivisesti 5-HT:ia SERT:n kautta *in vitro* sekä nostavan solunulkoista 5-HT-pitoisuutta *in vivo*.

Reesusapinat eivät itseannostele TFMPP:a, eivätkä aineen vaikutukset myöskään muistuta amfetamiinia tunnistusärsykekokeiden perusteella (Fantegrossi ym., 2004). BZP ja TFMPP yhdessä aiheuttivat näissä kokeissa heikomman vasteen kuin BZP yksinään. Tämän yhdistelmän väärinkäyttöpotentiaali lienee siis heikompi kuin pelkän BZP:n.

Tutkittaessa BZP:n ja TFMPP:n neurokemiallisia yhteisvaikutuksia havaittiin solunulkoisten 5-HT- ja dopamiinipitoisuuksien kasvavan valtavasti ja muistuttavan MDMA:n aiheuttamia neurokemiallisia vaikutuksia (Baumann ym., 2004). Dopamiinipitoisuuden nousu oli suurempi kuin aineiden yksinään aiheuttamat vaikutukset yhteensä, joten aineiden vaikutukset lienevät keskenään synergisiä. Koska BZP:lla ja TFMPP:lla ei ole yhteisvaikutuksia *in vitro*, Baumann ym. otaksuvat, että synergian taustalla saattaisi olla farmakokineettisiä tekijöitä. Yhdistelmänä aineet myös aiheuttivat eläimille kouristuksia ja ataksiaa, joita kumpikaan aine yksin ei ole tehdyissä tutkimuksissa aiheuttanut. Nämä haittavaikutukset ilmenivät annoksella, joka oli vain kolminkertainen pienimpään vaikuttavaan annokseen verrattuna, eli yhdistelmän turvamarginaali on varsin kapea. Tämän perusteella BZP:n ja TFMPP:n yhteiskäyttö saattaa ihmisilläkin olla riskialtista.

Edellä kuvattujen tutkimusten perusteella BZP-TFMPP-yhdistelmä ei siis näyttäisi olevan niin addiktiivinen kuin pelkkä BZP, mutta sen akuutit haittavaikutukset puolestaan näyttävät vakavammilta kuin BZP:n. Tilanne näyttäisi olevan verrattavissa amfetamiinin ja MDMA:n

välisiin eroihin vaikutusmekanismeissa ja riippuvuuspotentiaalissa. Amfetamiini vaikuttaa olevan addiktiivisempi kuin MDMA, ja sen vaikutukset välittyvät pääasiassa dopamiinin kautta (vrt. BZP), kun taas sen johdannaisen MDMA:n vaikutukset välittyvät sekä dopamiinin että serotoniinin kautta (vrt. BZP-TFMPP).

## 5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS

Tässä tutkimuksessa selvitetään ehdollistetun paikkahakuisuuskokeen avulla, onko BZP:lla palkitsevia ominaisuuksia. Kokeessa koe-eläimet opetetaan yhdistämään tutkittavan aineen vaikutukset tiettyyn ympäristöön, ja mikäli eläin alkaa tämän jälkeen suosia ympäristöä, eli aine aiheuttaa paikkahakuisuutta, tulkitaan aineella olevan palkitsevia ominaisuuksia. Palkitsevien ominaisuuksien katsotaan heijastavan aineen riippuvuuspotentiaalia, sillä useimpien ihmisten väärinkäyttämien aineiden on todettu aiheuttavan ehdollistettua paikkahakuisuutta. (Carr ym., 1989).

BZP:n palkitsevien ominaisuuksien toteamisen lisäksi tutkimuksessa selvitetään dopamiinin merkitystä niiden säätelyssä D1- ja D2-reseptorien salpauksen avulla. Dopamiinia pidetään riippuvuuden kannalta keskeisimpänä hermovälittäjäaineena, koska väärinkäytettyjen aineiden on yleisesti todettu aktivoivan aivojen mesokortikolimbistä dopaminergistä järjestelmää.

## 6 AINEISTO JA MENETELMÄT

### 6.1 Tutkittavat aineet

BZP (Fluka 13815, Sigma-Aldrich, Helsinki, Suomi) sekoitettiin pieneen määrään tislattua vettä ja 2 M suolahappoa (HCl), minkä jälkeen pH säädettiin 2 M natriumhydroksidilla (NaOH) välille 6,5 - 7,0 ja liuos täytettiin lopputilavuuteensa tislattulla vedellä. Vastaava vehikkeliliuos valmistettiin samalla tavalla (paitsi ilman BZP:a), jotta se olisi ominaisuuksiltaan mahdollisimman lähellä BZP-liuosta. Raklopridi-L-tartraatti (RAC; R-121, Sigma/RBI, Natick, MA) ja SCH-23390-HCl (SCH; D-054, Sigma/RBI) liuotettiin annostelua varten saliniin (0,9 % NaCl), jota käytettiin myös niiden vehikkelinä. Aineiden annokset laskettiin puhtaina emäksinä, annostelu tapahtui intraperitoneaalisesti (i.p.) tilavuudella 1 ml/kg.

### 6.2 Eläimet

Koe-eläiminä käytettiin nuoria Wistar -urosoittia, jotka painoivat kokeen alussa 200-300 g. Eläimet toimitettiin koe-eläinkasvattamo Harlan Netherlands B.V. :ltä Alankomaista Kansanterveyslaitoksen Päihdetutkimusyksikön koe-eläintiloihin vähintään viikkoa ennen kokeen alkua. Ne säilytettiin pareittain Macrolon III -tyypin häkeissä. Säilytyshuoneen valorytmi oli 12 tuntia valojen ollessa päällä klo 8.00-20.00. Lämpötila oli  $21 \pm 1$  °C ja suhteellinen ilmankosteus 35-55 %. Eläimet saivat ruokaa (Altromin-kasvatusrehu) ja juomaa (vesijohtovesi) *ad libitum*. Kokeen päätyttyä eläimet lopetettiin hiilidioksidilla. Kokeet olivat Kansanterveyslaitoksen Koe-eläintoimikunnan hyväksymiä.

### 6.3 Ehdollistettu paikkahakuisuus

Käytetty koejärjestely on ollut Kansanterveyslaitoksen Huumetutkimusyksikössä käytössä useita vuosia (Meririnne ym., 2001).

### 6.3.1 Välineistö ja koehuone

Koelaatikot koottiin jokaisena koepäivänä riviin lattialle. Laatikoida oli kahdeksan, joten kokeeseen mahtui kerralla kahdeksan eläintä. Suorakaiteen muotoiset polyvinyylikloridista valmistetut koelaatikot (60 x 30 x 45 cm) jakautuivat kukin kahteen väriltään, pohjamateriaaliltaan ja hajultaan keskenään erilaiseen puoliskoon, joiden välinen aukko (8 x 6 cm) oli suljettavissa ns. giljotiiniovella. Toinen puolisko oli valkoinen, ja sen pohjalla oli metalliritilä. Toinen oli musta, jonka kahteen takanurkkaan annosteltiin kumpaankin 5 µl 3 % etikkahappoliuosta. Laatikot peitettiin läpinäkyvillä, rei'itetyillä muovikansilla, jotka vaimensivat melua ja estivät rottia pääsemästä ulos laatikoista. Jokaisen päivän päätteeksi laatikot pestiin kevyesti harjaten vedellä ja miedosti emäksisellä Purin N-pesuaineella ja pyyhittiin käsipyyhkeillä.

Koehuoneen valaistus oli himmeä: 0,05 luksia keskimmäisten koelaatikoiden yläreunasta mitattuna. Toimenpiteet suoritettiin pitkäaaltoisessa punavalossa (jota rotat eivät näe hyvin). Mahdollisten äänihäiriöiden peittämiseksi huoneessa käytettiin valkoista taustakohinaa ja pyrittiin työskentelemään mahdollisimman ääneti. Aina, kun mahdollista kokeen suorittaja oli kokeen aikana huoneen ulkopuolella.

### 6.3.2 Kokeen suoritus

Koe kesti seitsemän päivää ja koostui kolmesta vaiheesta, jotka olivat totutus, ehdollistaminen ja mittaus.

Totutus (1.-3. päivä):

Rotan annettiin tottua koelaatikkoonsa kunakin päivänä 15 minuuttia (900 s). Giljotiiniovi oli auki, joten rotta sai vapaasti liikkua laatikossa. Kolmantena päivänä eri puoliskoilla vietetyt ajat mitattiin sekunttikelloilla. Näin saatiin selville pohja-ajat, joiden perusteella vähemmän preferoitu puoli valittiin BZP-ehdollistamispuoleksi. Rotat, joiden pienempi pohja-aika jäi alle 180 sekuntiin hylättiin kokeen tässä vaiheessa, koska ne olisivat lisänneet hajontaa ja siten tarpeettomasti kasvattaneet ryhmäkokoja.

Koejärjestely oli harhaton, koska eläimet eivät keskimäärin suosineet lähtökohtaisesti kumpaakaan koelaatikon puolta. Lisäksi se oli tasapainottamaton, sillä kukin eläin ehdollistettiin BZP:lle vähemmän preferoidulla laatikon puolella. (Harhattomuutta ja tasapainottamista käsiteltiin tarkemmin luvussa 3.3).

Ehdollistaminen (4.-6. päivä):

Ehdollistamisvaiheessa giljotiiniovi oli suljettuna, joten rotta ei päässyt liikkumaan laatikon puolelta toiselle. Kunakin päivänä suoritettiin kaksi ehdollistamista. Ensin rotalle annosteltiin vehikkeliliuosta ja se asetettiin 40 minuutiksi koelaatikon sille puolelle, jolla se pohja-ajan perusteella viihtyi paremmin. Tämän jälkeen pidettiin noin kahden tunnin tauko. Tauon jälkeen rotta sai vehikkeliä (kontrolli) tai BZP-annoksen (1.25, 5 tai 20 mg/kg, reseptorisalpaajakokeissa 10 mg/kg), jonka jälkeen se asetettiin 40 minuutiksi BZP-ehdollistamispuolelle.

Reseptorisalpaajakokeiden ehdollistamiset suoritettiin muuten samoin, mutta kokeeseen lisättiin reseptorisalpaajainjektiot vehikkeleineen. Ennen kunkin päivän ensimmäistä ehdollistamista rotalle annosteltiin vehikkeliä myöhemmin annosteltavaa reseptorisalpaajaa vastaavalla tavalla. Reseptorisalpaaja (SCH 0,2 mg/kg, RAC 0,8 mg/kg tai vastaava vehikkeli) annosteltiin ennen BZP-ehdollistamista. SCH-annos annettiin 40 minuuttia ja RAC-annos 10 minuuttia ennen ehdollistamista (ja vehikkelit vastaavasti). Reseptorisalpaajien annokset ja aikaintervallit on aiemmin todettu käyttökelpoisiksi ja tarkoitukseenmukaisiksi (esim. Meririnne ym. 2001). Koska RAC:n on joskus todettu yksin aiheuttavan lievää paikkahakuisuutta (Meririnne ym., 2001) ja SCH:n lievää aversiota (Tzschentke, 1998), varmistettiin ennen varsinaisia kokeita, etteivät aineet aiheuta näitä muutoksia nyt käytetyillä annoksilla.

Mittaus (7. päivä):

Kokeen viimeisenä päivänä koelaatikon eri puolilla vietetyt ajat mitattiin samoin kuin kolmantena päivänä, jotta saatiin selville loppuajat, ja miten ne mahdollisesti erosivat pohja-ajoista.

#### 6.4 Tilastolliset menetelmät

Kuhunkin käsittelyryhmään sijoitettiin suunnilleen yhtä monta mustalla ja valkoisella koelaatikon puolella BZP-ehdollistettua eläintä, jotta puolen mahdolliset vaikutukset tuloksiin saatiin kontrolloiduksi. Pohja-aikojen keskiarvot ja -virheet pyrittiin ryhmäjaon avulla pitämään kussakin ryhmässä yhtäläisinä.

Ryhmien sisäisiä pohja- ja loppuaikojen välisiä eroja analysoitiin parittaisella t-testillä. Ryhmien välisiä eroja analysoitiin yksisuuntaisella kovarianssianalyysillä (ANCOVA), jossa huume-ehdollistamispuolen loppuaikaa käytettiin ehdollistetun paikkahakuisuuden mittana pohja-ajan ollessa kovariaatti. Ryhmien parittaisiin vertailuihin käytettiin Bonferronin jatkotestiä vertailujen määrän mukaisilla vapausasteilla.

Yleisesti käytettyä P-arvoa 0,05 pidettiin tilastollisen merkitsevyyden ylärajana kaikissa testeissä. Kaikki tulokset ilmaistaan muodossa keskiarvo  $\pm$  keskivirhe, ellei toisin ilmoiteta.

## 7 TULOKSET

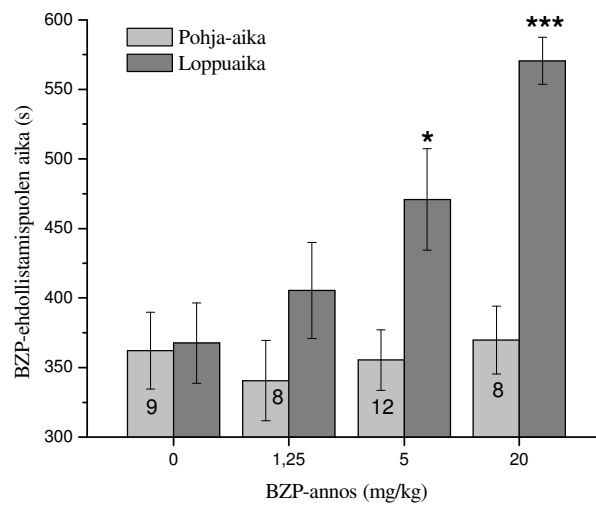
### 7.1 Ehdollistettu paikkahakuisuus

Kaikilla BZP-annoksilla huume-ehdollistamispuolen loppuaika oli kasvanut pohja-ajasta. Pienimmällä annoksella (1,25 mg/kg) aikojen erotus ei ollut tilastollisesti merkitsevä, mutta molemmilla suuremmilla annoksilla (5 mg/kg ja 20 mg/kg) se oli erittäin merkitsevä. Kontrolliryhmässä ajat eivät eronneet toisistaan (Taulukko 7.1).

**Taulukko 7.1** BZP-ehdollistamispuolen loppu- ja pohja-aikojen erotus sekä erotuksen merkitsevyys BZP-annoksen mukaan. (\*\*\*)  $\leq 0,001$  (parittainen t-testi).

<i><b>BZP-annos (mg/kg)</b></i>	<i><b>Aikojen erotus (s)</b></i>	<i><b>t-arvo</b></i>	<i><b>Merkitsevyys</b></i>
<b>0 (kontrolli)</b>	5 ± 11	- 0,495	0,634
<b>1,25</b>	65 ± 47	- 1,385	0,209
<b>5</b>	116 ± 23	- 5,010	< 0,001 ***
<b>20</b>	201 ± 24	- 8,352	< 0,001 ***

BZP nosti huume-ehdollistamispuolen loppuaikaa annosriippuvaisesti, ja annosten väliltä löytyi erittäin merkitseviä eroja ( $F = 8,796$ ,  $P = 0,001$ , yksisuuntainen ANCOVA). Bonferronin jälkitemsti kolmella parittaisvertailulla osoitti, että annos 20 mg/kg erosi erittäin merkitsevästi ( $P < 0,001$ ), ja annos 5 mg/kg merkitsevästi ( $P = 0,017$ ) kontrollista. Annos 1,25 mg/kg puolestaan ei eronnut kontrollista läheskään merkitsevästi ( $P = 0,587$ ; Kuva 7.1.).



**Kuva 7.1** BZP:n aiheuttama ehdollistettu paikkahakuisuus. Kuvassa näkyvät BZP-ehdollistamisaikojen keskiarvot ennen (pohja-aika) ja jälkeen (loppuaika) ehdollistamista. Virhepalkit ilmaisevat keskivirheen. Numerot pohja-aikojen kuvaavissa pylväissä ilmaisevat rottien lukumäärän kussakin ryhmässä. (\*)  $P \leq 0,05$ , (\*\*\*)  $P \leq 0,001$  verrattuna kontrolliin (Bonferronin jatkotesti kolmella vapausasteella)

## 7.2 Reseptoripauskokeet

Ennen varsinaisia kokeita, joissa selvitettiin D1- ja D2-reseptorien salpauksen mahdollisia vaikutuksia BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen, varmistettiin vielä, ettei kumpikaan reseptoriantagonisti itsessään aiheuta paikkahakuisuutta tai -aversiota. Koska antagonistilla ei tällaisia vaikutuksia ilmennyt, ei näiden tarkistusluontoisten esikokeiden tuloksia esitellä tässä tarkemmin, vaan keskitytään varsinaisten koetulosten raportointiin.

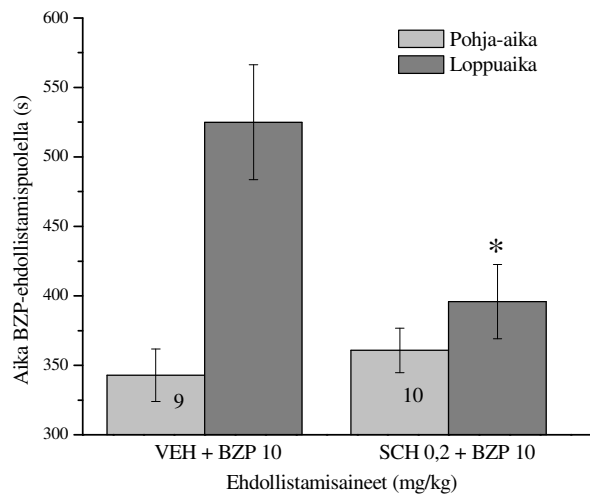
### 7.2.1 Dopamiini-1-reseptoripaus

Kuten Taulukosta 7.2 näkyy, paikkahakuisuuskokeen loppuaika on pohja-aikaa hyvin merkitsevästi suurempi ryhmässä, jolle annosteltiin vehikkeliä ennen BZP:ia. Ryhmässä, jolle annosteltiin selektiivistä D1-reseptoripausaajaa SCH:ia, ajoissa ei ollut merkitsevää eroa.

**Taulukko 7.2** BZP-ehdollistamispuolen loppu- ja pohja-aikojen erotus sekä erotuksen merkitsevyys SCH-annoksen mukaan. SCH: SCH-23390, VEH: vehikkeli, (\*\*)  $P \leq 0,01$  (parittainen t-testi).

<i>Käsittely</i>	<i>Aikojen erotus (s)</i>	<i>t-arvo</i>	<i>Merkitsevyys</i>
<b>VEH + BZP 10 mg/kg</b>	182 ± 47	- 3,883	0,005 **
<b>SCH 0,2 + BZP 10 mg/kg</b>	35 ± 27	-1,325	0,218

Ryhmien välillä oli merkitsevä ero ( $F = 6,826$ ,  $P = 0,019$ , yksisuuntainen ANCOVA), joka ei selittynyt kovariaattina käytetyllä pohja-ajalla ( $F = 0,088$ ,  $P = 0,771$ ). SCH:n todettiin siis estävän BZP:n aiheuttamaa ehdollistettua paikkahakuisuutta (Kuva 7.2).



**Kuva 7.2** SCH:n vaikutus BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen. Kuvassa näkyvät BZP-ehdollistamispuolen aikojen keskiarvot ennen (pohja-aika) ja jälkeen (loppuaika) ehdollistamisen. Virhepalkit ilmaisevat keskivirheen. Numerot pohja-aikoja kuvaavissa pylväissä ilmaisevat rottien lukumäärän kussakin ryhmässä. SCH: SCH-23390, VEH: vehikkeli, (\*)  $P \leq 0,05$  verrattuna kontrolliin (VEH + BZP 10).

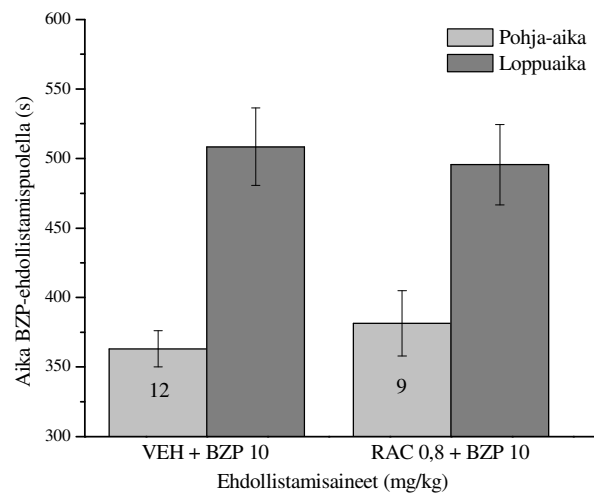
### 7.2.2 Dopamiini-2-reseptorisalpaus

Sekä ryhmässä, jolle ennen BZP:ia annosteltiin vehikkeliä, että ryhmässä, joka sai selektiivistä D2-salpaaja RAC:ia, loppuajat olivat pohja-aikoja erittäin merkitsevästi suuremmat (Taulukko 7.3).

**Taulukko 7.3** BZP-ehdollistamispuolen loppu- ja pohja-aikojen erotus sekä erotuksen merkitsevyys RAC-annoksen mukaan. RAC: raklopridi, VEH: vehikkeli, (\*\*\*)  $P \leq 0,001$  (parittainen t-testi).

<i>Käsittely</i>	<i>Aikojen erotus (s)</i>	<i>t-arvo</i>	<i>Merkitsevyys</i>
<b>VEH + BZP 10 mg/kg</b>	145 ± 91	- 5,535	< 0,001 ***
<b>RAC 0,8 + BZP 10 mg/kg</b>	121 ± 65	- 4,961	0,001 ***

Ryhmien väliltä ei liioin löytynyt eroja, jotka olisivat selitettävissä RAC-annoksella ( $F = 0,522$ ,  $P = 0,479$ , yksisuuntainen ANCOVA). RAC:illa ei siis ollut vaikutusta BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen (Kuva 7.3).



**Kuva 7.3** RAC:n vaikutus BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen. Kuvassa näkyvät BZP-ehdollistamispuolen aikojen keskiarvot ennen (pohja-aika) ja jälkeen (loppuaika) ehdollistamisen. Virhepalkit ilmaisevat keskivirheen. Numerot pohja-aikojen kuvaavissa pylväissä ilmaisevat rottien lukumäärän kussakin ryhmässä. RAC: raklopridi, VEH: vehikkeli.

## 8 TULOSTEN TARKASTELU

### 8.1 1-Bentsyylipiperatsiinin aiheuttama ehdollistettu paikkahakuisuus

BZP:n todettiin aiheuttavan ehdollistettua paikkahakuisuutta annosriippuvaisesti; annokset 5 ja 20 mg/kg aiheuttivat selvän paikkahakuisuuden, ja annoksella 1,25 mg/kg oli nähtävissä samansuuntainen vaikutus, joka ei kuitenkaan ollut tilastollisesti merkitsevä. Näiden tulosten perusteella BZP:lla on palkitsevia vaikutuksia, ja siten todennäköisesti myös riippuvuuspotentiaalia. Tulokset ovat sopusoinnussa mm. aiempien apinoilla tehtyjen kokeiden kanssa, joissa BZP:n todettiin toimivan amfetamiininkaltaisena tunnistusärsykkeenä ja aktivoivan itseannostelua (Fantegrossi ym., 2004).

Käytetyssä tasapainottamattomassa koeasetelmassa, jossa päihde-ehdollistaminen suoritettiin kunkin eläimen alunperin vieroksumalla koelaatikon puolella, on periaatteessa mahdollista, että syntynyt paikkahakuisuus selittyisi BZP:n ehdollistusta lievittäväillä vaikutuksilla, joiden takia eläimet olisivat alkaneet sietää aiemmin vieroksumaansa puolta paremmin. Havaittu paikkahakuisuus oli kuitenkin niin vahvaa, ettei sen pitäisi olla selitettävissä BZP:n aiheuttamalla anksiolyyssillä (Tzschentke, 1998). Kussakin ryhmässä oli mukana suunnilleen yhtä paljon laatikon eri puolilla BZP-ehdollistettuja eläimiä, joten myöskään puolten erilaiset piirteet eivät voi selittää tuloksia. Mittaustarkkuus ei ollut paras mahdollinen, sillä ajat mitattiin sekunttikellolla. Toisaalta ajoissa havaitut erot olivat niin suuria, että mahdollisilla pienillä mittausvirheillä tuskin olisi käytännössä merkitystä. Myös ulkopuoliset häiriöt saatiin koehuoneesta hyvin eliminoiduiksi. Kaiken kaikkiaan koetuloksia voidaan pitää luotettavina.

### 8.2 Dopamiini-1-reseptorisalpauksen vaikutukset 1-bentsyylipiperatsiinin aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen

D1-salpaaja SCH esti BZP:n aiheuttaman ehdollistetun paikkahakuisuuden. BZP:n palkitsevat vaikutukset näyttäisivät siis välittyvän D1-reseptorien kautta. Sama havainto on tehty myös useiden muiden stimulanttien (esim. amfetamiinin ja kokaiinin) aiheuttaman paikkahakuisuuden kohdalla (Tzschentke, 1998). D1-salpauksen on myös havaittu hävittävän amfetamiinin kyvyn toimia tunnistusärsykkeenä (West ym., 1995). Lisäksi amfetamiinin

(Fletcher, 1998; Phillips ym., 1994) ja kokaiinin (Caine ja Koob, 1994) vahvistavien vaikutusten on todettu heikentyneen D1-salpauksen jälkeen.

Tulosten perusteella BZP:n vaikutuskohteet aivoissa voitaneen paikantaa limbiseen järjestelmään, jossa D1-reseptorit pääosin sijaitsevat, eli aivotursoon, hajukäämiin ja akkumbens- ja manteliumakkeeseen sekä jossakin määrin mahdollisesti myös aivokuoreen ja hypotalamukseen. Useat riippuvuutta aiheuttavat aineet vapauttavat dopamiinia akkumbens-tumakkeessa, ja BZP:nkin on todettu lisäävän tumakkeen solunulkoisia dopamiinipitoisuuksia (Baumann ym., 2004; Ellermaa ym., 2004). Ainakin akkumbens-tumaketta voidaan siis pitää hyvin todennäköisenä BZP:n vaikutuskohteena, joka on olennainen aineen palkitseville vaikutuksille.

Toisaalta täytyy pitää mielessä, että SCH:llä on joskus todettu aversiivisiä vaikutuksia (Tzschentke, 1998), jotka voisivat selittää paikkahakuisuutta estävän vaikutuksen. Tämä mahdollisuus voidaan kuitenkin sulkea pois, sillä ennen koetta varmistettiin, ettei SCH aiheuttanut paikka-aversiota käytetyllä annoksella.

### **8.3 Dopamiini-2-reseptorisalpauksen vaikutukset 1-bentsyyli-piperatsiinin aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen**

D2-salpaaja RAC ei vaikuttanut mitenkään BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen, joten D2-reseptoreilla ei ilmeisesti ole ratkaisevaa roolia BZP:n palkitsevissa vaikutuksissa, mikä ei välttämättä ole kovin yllättävää, kun ottaa huomioon, että suuri osa D2-reseptoreista on autoreseptoreja, joiden tehtävä on takaisinkytkennän kautta hillitä liiallista dopaminergistä aktiivisuutta. Toisaalta itseannostelukokeissa D2-salpaus on heikentänyt amfetamiinin (Fletcher, 1998; Phillips ym., 1994) ja kokaiinin (Caine ja Koob, 1994) vahvistavia vaikutuksia.

On tosin muistettava, että aiemmin RAC:n on todettu itsessään aiheuttavan paikkahakuisuutta (Meririnne ym., 2001), mikä voisi osaltaan selittää, ettei aineella ollut vaikutusta BZP:n aiheuttamaan paikkahakuisuuteen. Myös toisen D2-salpaajan, metoklopramidin, on todettu aiheuttaneen paikkahakuisuutta, jonka oletettiin olevan pikemmin uutuus- kuin huumehakuisuutta, sillä lääkkeellä otaksuttiin olevan ehdollistamisympäristöön tottumista

häiritseviä vaikutuksia (Hoffman ja Beninger, 1989). Toisaalta ennen nyt tehtyä koetta varmistettiin, ettei RAC aiheuta käytetyllä annoksella paikkahakuisuutta, joten voitaneen pitää todennäköisenä, etteivät BZP:n palkitsevat vaikutukset ole D2-reseptorivälitteisiä. Lisäksi oletetaan, että palkitsevien vaikutusten sijaan D2-reseptoreilla saattaisi olla ratkaiseva merkitys herkistymismekanismeissa (Henry ym., 1998), joita tässä tutkimuksessa ei mitattu.

## 9 POHDINTA

BZP aiheutti selvästi ehdollistettua paikkahakuisuutta, joten nämä kokeet vahvistivat käsitystä, jonka mukaan BZP on amfetamiinia muistuttava psykostimulantti. Sen palkitsevat vaikutukset välittynevät ainakin D1-reseptorien kautta, sillä D1-salpauksella pystyttiin estämään paikkahakuisuuden synty. Koska D1-reseptoreja on erityisen tiheästi aivojen limbisillä alueilla, voidaan näiden alueiden otaksua olevan keskeisessä asemassa BZP:n palkitsevuuden kannalta, mikä on sopuosoinnussa mm. aiempien *in vivo* mikrodialyysikokeiden kanssa, joissa on todettu BZP:n nostavan solunulkoisia dopamiinipitoisuuksia akkumbens-tumakkeessa (Baumann ym., 2004; Ellermaa ym., 2004).

D2-reseptorien salpaus sen sijaan ei estänyt paikkahakuisuutta, joten nämä reseptorit ja niitä runsaasti sisältävä VT eivät ilmeisesti välitä BZP:n palkitsevia vaikutuksia. BZP:n palkitsevat vaikutukset eivät ilmeisesti perustu dopamiinin vapautumiseen presynaptisesta päätteestä, sillä suuri osa D2-reseptoreista on vapautumista sääteleviä autoreseptoreja.

Dopamiinia presynaptisesta päätteestä vapauttavan amfetamiinin aiheuttama paikkahakuisuus on estettävissä sekä D1- että D2-reseptorisalpauksella, kun taas kokaiinin aiheuttama paikkahakuisuus saadaan estetyksi vain D1-salpauksella (Tzschentke, 1998). Tältä osin BZP muistuttaa siis enemmän kokaiinia kuin amfetamiinia, minkä perusteella BZP:n palkitsevat vaikutukset saattaisivat kokaiinin tavoin perustua dopamiinin takaisinoton estoon. Tulokset sopivat hyvin itseannostelukokeisiin, joissa aiemmin kokaiinia annostelemaan opetetut apinat annostelivat BZP:a yhtä innokkaasti (Fantegrossi ym., 2004).

Tulokset viittavaat BZP:lla olevan väärinkäyttö- ja riippuvuuspotentiaalia, minkä vuoksi olisi perusteltua, että se kuuluisi lainsäädännöllisesti samaan kategoriaan mm. amfetamiinin kanssa. Jatkossa selvitettäneen myös 5-HT:n osuutta BZP:n ja vaikutuksissa, sekä onko BZP:lla mahdollisesti herkistäviä vaikutuksia, ja mikäli on, mitkä ovat niiden mekanismit.

Päihderiippuvuus ei myöskään ole vain neurobiologinen häiriö, vaan se on paljon monitahoisempi ilmiö, johon liittyy myös muita terveydellisiä sekä lukuisia sosiaalisia,

kulttuurisia, taloudellisia ja kansainvälisiä ulottuvuuksia. Lisääntyvä biolääketieteellinen ymmärrys ei siis saisi johtaa muiden asiaan liittyvien näkökohtien laiminlyöntiin, eikä päinvastoin. Toteutettavissa hoitokäytännöissä ja yhteiskuntapolitiikassa voitaisiinkin entistä laajemmin yhdistää ja hyödyntää eri alojen tietämystä. On myös syytä muistaa, että yksilötasolla riippuvuus on monin tavoin invalidisoiva ja pahimmillaan tappava sairaus, josta aiheutuu syvää inhimillistä kärsimystä niin yksilölle itselleen kuin hänen lähipiirilleen. Siksi sen tutkimusta eri aloilla on syytä jatkaa.

## 10 JOHTOPÄÄTÖKSET

- BZP aiheuttaa ehdollistettua paikkahakuisuutta annosriippuvaisesti, joten sillä voidaan otaksua olevan palkitsevia ominaisuuksia sekä väärinkäyttö- ja riippuvuuspotentiaalia
- D1-reseptorisalpaus esti BZP:n aiheuttaman ehdollistetun paikkahakuisuuden, joten BZP:n palkitsevat ominaisuudet välittyivät D1-reseptorien kautta.
- D2-reseptorisalpauksella ei ollut vaikutusta BZP:n aiheuttamaan ehdollistettuun paikkahakuisuuteen, joten BZP:n palkitsevat ominaisuudet eivät välittyne D2-reseptorien kautta.
- Näiden ja aiempien tulosten perusteella BZP:a voidaan pitää amfetamiinin- ja kokaiininkaltaisena psykostimulanttina.

## **KIITOKSET**

Työ tehtiin Kansanterveyslaitoksella Mielenterveyden- ja alkoholitutkimuksen osaston Huumetutkimusyksikössä Yrjö Jahnssoonin Säätiön tukemana.

Haluan kiittää kaikkia työtovereitani viime vuosien varrelta. Erityiskiitokset ohjaajilleni FaT Aino Kankaanpäälle ja LT Esa Meririnteelle sekä dos. Timo Seppälälle kannustuksesta, hyvistä ideoista ja kommentteista sekä ennen kaikkea mahdollisuudesta tehdä tämä työ. Lisäksi haluan kiittää VTT Kimmo Vehkalahta avusta aineiston tilastollisessa käsittelyssä.

Suurkiitos kaikille ystäväilleni, jotka ovat tehneet opiskeluvuosista elämäni parasta aikaa sekä tukeneet ja myötäeläneet silloinkin, kun opiskelu on maistunut puulta.

Lopuksi kiitokset avomiehelleni Esalle, äidilleni Riikalle, isälleni Karille ja tädilleni Marille.

## VIITELUETTELO

- Austin, H. ja Monasterio, E. (2004). Acute psychosis following ingestion of 'Rapture'. *Australas Psychiatry*, 12(4):406-8.
- Babbini, M., Gaiardi, M. ja Bartoletti, M. (1979). Dose-time motility effects of morphine and methadone in naive or morphinized rats. *Pharmacological Research Communications*, 11(9), 809-816.
- Balmelli, C., Kupferschmidt, H., Rentsch, K. ja Schneemann, M. (2001). [Fatal brain edema after ingestion of ecstasy and benzylpiperazine]. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 126(28-29), 809-811.
- Bardo, M. T. ja Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology*, 153(1), 31-43.
- Baumann, M. H., Clark, R. D., Budzynski, A. G., Partilla, J. S., Blough, B. E. ja Rothman, R. B. (2004). Effects of "legal x" piperazine analogs on dopamine and serotonin release in rat brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1025, 189-197.
- Bear, M.F., Connors, B.W. ja Paradiso, M.A. (2001). Brain mechanisms of emotion. Kirjassa: S. Katz (toim.) *Neuroscience Exploring the Brain* (2. painos., s. 580-605). Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Berridge, K. C. ja Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research. Brain Research Reviews*, 28(3), 309-369.
- Bye, C., Munro-Faure, A. D., Peck, A. W. ja Young, P. A. (1973). A comparison of the effects of 1-benzylpiperazine and dexamphetamine on human performance tests. *Eur J Clin Pharmacol*, 6(3), 163-169.
- Caine, S. B. ja Koob, G. F. (1994). Effects of dopamine D-1 and D-2 antagonists on cocaine self-administration under different schedules of reinforcement in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*, 270(1), 209-218.
- Campbell, H., Cline, W., Evans, M., Lloyd, J. ja Peck, A. W. (1973). Comparison of the effects of dexamphetamine and 1-benzylpiperazine in former addicts. *Eur J Clin Pharmacol*, 6(3), 170-176.
- Carr, G.D., Fibiger, H.C. ja Phillips, A.G. (1989). Conditioned place preference as a measure of drug reward. Kirjassa: J. M. Liebman & S. J. Cooper (toim.) *The Neuropharmacological Basis of Reward* (s. 264-319). Oxford: Clarendon Press.
- Cooper, J.R., Bloom, F.E. ja Roth, R.H. (1996). *The biochemical basis of neuropharmacology*. (7. painos.). New York: Oxford University Press.
- Cunningham, C.L. (1993). Pavlovian drug conditioning. Kirjassa: F. van Haaren (toim.) *Methods in Behavioral Pharmacology* (s. 349-381). Amsterdam: Elsevier Science Publisher.
- de Boer, D., Bosman, I. J., Hidvegi, E., Manzoni, C., Benko, A. A., dos Reys, L. J. ja Maes, R. A. (2001). Piperazine-like compounds: a new group of designer drugs-of-abuse on the European market. *Forensic Sci Int*, 121(1-2), 47-56.
- Di Chiara, G. (1998). A motivational learning hypothesis of the role of mesolimbic dopamine in compulsive drug use. *J Psychopharmacol*, 12(1), 54-67.
- Di Chiara, G. (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol*, 375(1-3), 13-30.
- Drug Enforcement Administration. (2002). Schedules of controlled substances: temporary placement of benzylpiperazine and trifluoromethylphenylpiperazine into schedule I. *Fed Regist*, 67(183), 59161-59162.
- Drug Enforcement Administration. (2004). Schedules of controlled substances; placement of 2,5-dimethoxy-4-(n)-propylthiophenethylamine and N-benzylpiperazine into Schedule I of the Controlled Substances Act. Final rule. *Fed Regist*, 69(53), 12794-12797.
- Ellermaa, S., Kajos, M., Kankaanpää, A. ja Seppälä, T. (2004). Acute neurochemical and behavioral effects of 3,4-methylenedioxyethylamphetamine, 4-methylthioamphetamine, *cis*-4-methylaminorex and 1-benzylpiperazine in the rat. Julkaisematon käsikirjoitus.
- Erowid. (2004). Erowid experience vaults: piperazine reports. [www.erowid.org](http://www.erowid.org)
- Expert Advisory Committee on Drugs. (2004). Expert Advisory Committee on Drugs (EACD) advice to the minister on: Benzylpiperazine (BZP). <http://www.ndp.govt.nz/committees/eacd/papers.html#BZP>
- Fantegrossi, W.E., Winger, G., Woods, J.H., Woolverton, W.L. ja Coop, A. (2004). Reinforcing and discriminative stimulus effects of 1-benzylpiperazine and trifluoromethylphenylpiperazine in rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence*.
- Fekete, M. I., Szentendrei, T., Herman, J. P. ja Kanyicska, B. (1980). Effects of reserpine and antidepressants on

- dopamine and DOPAC (3,4-dihydroxyphenylacetic acid) concentrations in the striatum, olfactory tubercle and median eminence of rats. *Eur J Pharmacol*, 64(4), 231-238.
- Fletcher, P. J. (1998). A comparison of the effects of risperidone, raclopride, and ritanserin on intravenous self-administration of d-amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 60(1), 55-60.
- Goudie, A.J. ja Leathley, M.J. (1993). Drug-discrimination assays. Kirjassa: A. Sahgal (toim.) *Behavioural Neuroscience* (Vol. 2, s. 145-167). New York: Oxford University Press.
- Haddad, P. (1999). Do antidepressants have any potential to cause addiction? *J Psychopharmacol*, 13(3), 300-307.
- Henry, D.J., Hu, X.T. ja White, F.J. (1998). Adaptations in the mesoaccumbens dopamine system resulting from repeated administration of dopamine D1 and D2 receptor-selective agonists: relevance to cocaine sensitization. *Psychopharmacology*, 140, 233-242.
- Hoffman, D. C. ja Beninger, R. J. (1989). The effects of selective dopamine D1 or D2 receptor antagonists on the establishment of agonist-induced place conditioning in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 33(2), 273-279.
- Kajos, M., Ellermaa, S., Kankaanpää, A. ja Seppälä, T. (2004). Behavioural effects of amphetamine analogues. International Society of Addiction Medicine 2004, Helsinki, Finland.
- Keskusrikospoliisi. (2003). Henkilökohtainen tiedonanto.
- Keskusrikospoliisi. (2005). Henkilökohtainen tiedonanto.
- Klawe, C., Anghelescu, I., Himmerich, H., Röhrich, J., Szegedi, A. ja Hiemke, C. (2001). A case of possible N-benzylpiperazine induced persisting perception disorder and description of initial intoxication syndrome. *Pharmacopsychiatry* 2001, 22nd Symposium of AGNP, Nuremberg.
- Koob, G. F. ja Le Moal, M. (1997). Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*, 278(5335), 52-58.
- Lewis, M.J. (1993). Electrical brain stimulation reward: a model of drug reward and euphoria. Kirjassa: F. van Haaren (toim.) *Methods in Behavioral Pharmacology* (s. 383-412). Amsterdam: Elsevier Science Publisher.
- Lindesmith, A.R. (1938). A sociological theory of drug addiction. *American Journal of Sociology*, 31(6), 983-992.
- Magyar, K. (1987). Pharmacokinetic aspects of the mode of action of EGYT-475, a new antidepressant agent. *Pol J Pharmacol Pharm*, 39(2), 107-112.
- Magyar, K., Fekete, M. I., Tekes, K. ja Torok, T. L. (1986). The action of trelibet, a new antidepressive agent on [3H]noradrenaline release from rabbit pulmonary artery. *Eur J Pharmacol*, 130(3), 219-227.
- Malomvolgyi, B., Tothfalusi, L., Tekes, K. ja Magyar, K. (1991). Comparison of serotonin agonistic and antagonistic activities of a new antidepressant agent Trelibet (EGYT-475) and its metabolite EGYT-2760 on isolated rat fundus. *Acta Physiol Hung*, 78(3), 201-209.
- Markou, A., Kosten, T. R. ja Koob, G. F. (1998). Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology*, 18(3), 135-174.
- Markou, A., Weiss, F., Gold, L. H., Caine, S. B., Schulteis, G. ja Koob, G. F. (1993). Animal models of drug craving. *Psychopharmacology*, 112(2-3), 163-182.
- Meisch, R.A. ja Lemaire, G.A. (1993). Drug self-administration. Kirjassa: F. van Haaren (toim.) *Methods in Behavioral Pharmacology* (s. 257-300). Amsterdam: Elsevier Science Publisher.
- Meririnne, E., Kankaanpää, A. ja Seppälä, T. (2001). Rewarding properties of methylphenidate: sensitization by prior exposure to the drug and effects of dopamine D1- and D2-receptor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 298(2), 539-550.
- Miller, A.A., Green, A.F. ja Young, P.A. (1971). Julkaisematon tutkimus, johon Bye ym. sekä Campbell ym. viittaavat.
- Oberlander, C., Euvrard, C., Dumont, C. ja Boissier, J. R. (1979). Circling behaviour induced by dopamine releasers and/or uptake inhibitors during degeneration of the nigrostriatal pathway. *Eur J Pharmacol*, 60(2-3), 163-170.
- Phillips, G. D., Robbins, T. W. ja Everitt, B. J. (1994). Bilateral intra-accumbens self-administration of d-amphetamine: antagonism with intra-accumbens SCH-23390 and sulpiride. *Psychopharmacology*, 114(3), 477-485.
- Robinson, T. E. ja 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 Res*, 396(2), 157-198.
- Robinson, T. E. ja Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 18(3), 247-291.
- Robinson, T. E. ja Berridge, K. C. (2000). The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*, 95 Suppl 2, S91-117.
- Sato, M., Chen, C. C., Akiyama, K. ja Otsuki, S. (1983). Acute exacerbation of paranoid psychotic state after

- long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. *Biological Psychiatry*, 18(4), 429-440.
- Schechter, M. D. ja Calcagnetti, D. J. (1993). Trends in place preference conditioning with a cross-indexed bibliography; 1957-1991. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17(1), 21-41.
- Siegel, S. (1988). Drug anticipation and drug tolerance. Kirjassa: M. Lader (toim.) *The Psychopharmacology of Addiction* (s. 73-97). New York: Oxford University Press.
- "Sir Robin". (2003). DIHKAL - Drugs I Have Known And Loved. [rain.prohosting.com/robsku/dihkal/](http://rain.prohosting.com/robsku/dihkal/)
- Stewart, J., de Wit, H. ja Eikelboom, R. (1984). Role of unconditioned and conditioned drug effects in the self-administration of opiates and stimulants. *Psychological Review*, 91(2), 251-268.
- Stolerman, I. (1992). Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13(5), 170-176.
- Strakowski, S. M. ja Sax, K. W. (1998). Progressive behavioral response to repeated d-amphetamine challenge: further evidence for sensitization in humans. *Biological Psychiatry*, 44(11), 1171-1177.
- Strakowski, S. M., Sax, K. W., Setters, M. J. ja Keck, P. E., Jr. (1996). Enhanced response to repeated d-amphetamine challenge: evidence for behavioral sensitization in humans. *Biological Psychiatry*, 40(9), 872-880.
- Szoko, E., Kalasz, H., Kerecsen, L. ja Magyar, K. (1987). Studies on serum binding of some drugs. *Pol J Pharmacol Pharm*, 39(2), 177-183.
- Szucks, Z., Szentendrei, T. ja Fekete, M. I. (1987). The effect of EGYT-475 (Trelibet) and its metabolites on the potassium-stimulated 3H-noradrenaline release from cortical slices of rat brain. *Pol J Pharmacol Pharm*, 39(2), 185-193.
- Tekes, K., Tothfalusi, L., Malomvolgyi, B., Herman, F. ja Magyar, K. (1987). Studies on the biochemical mode of action of EGYT-475, a new antidepressant. *Pol J Pharmacol Pharm*, 39(2), 203-211.
- Telegdy, G., Fekete, M., Balazs, M. ja Kadar, T. (1983). Effects of a new antidepressant drug on active avoidance behavior in rats. Comparative study with tricyclic antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 266(1), 50-59.
- Tzschentke, T. M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiology*, 56(6), 613-672.
- Ungerstedt, U. (1971). Postsynaptic supersensitivity after 6-hydroxy-dopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 367, 69-93.
- West, W.B., van Groll, B.J. ja Appel, J.B. (1995). Stimulus effects of d-amphetamine II: DA, NE and 5-HT mechanisms. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 51(1), 69-76.
- Wikstrom, M., Holmgren, P. ja Ahlner, J. (2004). A2 (N-benzylpiperazine) a new drug of abuse in Sweden. *J Anal Toxicol*, 28(1), 67-70.
- Wise, R. A. (1988). The neurobiology of craving: implications for the understanding and treatment of addiction. *Journal of Abnormal Psychology*, 97(2), 118-132.
- Wise, R. A. ja Bozarth, M. A. (1987). A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review*, 94(4), 469-492.