



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
Τμήμα ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Προγεννητική έκθεση στην αλκοόλη: επίδραση στο αμυγδαλοειδές σώμα
επίμυων»**

Ευαγγελία Στ. Ασπροδίνη

Τριμελής εξεταστική επιτροπή:

Άννα Βασιλάκη, Επίκουρος Καθηγήτρια Φαρμακολογίας (*Επιβλέπουσα*)

Ευτυχία Ασπροδίνη, Καθηγήτρια Φαρμακολογίας

Δημήτριος Μπόγδανος, Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων

Διπλωματική Εργασία υποβληθείσα στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ως
μέρους των απαιτήσεων για την απόκτηση Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στην
Φαρμακολογία

ΛΑΡΙΣΑ 2025



UNIVERSITY OF THESSALY

**SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE**



**MASTER PROGRAM IN
“CLINICAL APPLICATIONS OF MOLECULAR MEDICINE”**

MASTER THESIS

«Prenatal alcohol exposure: effects in the rat amygdala

By

Evangelia S. Asproдини

Three-member Supervisory Committee:

Anna Vasilaki, Assistant Professor of Pharmacology (*Supervisor*)

Eftihia Asproдини, Professor of Pharmacology

Dimitrios Bogdanos, Professor of Internal Medicine and Immune Diseases

Master Thesis submitted to the Faculty of Medicine of the University of Thessaly in partial
fulfilment of the requirements for the degree of Master in Pharmacology

Larissa, 2025

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
SUMMARY	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
Αιθανόλη.....	7
<i>Ζωικά μοντέλα προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη.....</i>	<i>10</i>
<i>Φαρμακοκινητική</i>	<i>13</i>
<i>Φαρμακοδυναμική.....</i>	<i>17</i>
<i>Οξείες και χρόνιες επιδράσεις της αιθανόλης στον οργανισμό</i>	<i>19</i>
Αμυγδαλή	22
<i>Εμβρυογένεση.....</i>	<i>22</i>
<i>Κυτταρικοί πληθυσμοί</i>	<i>26</i>
<i>Ανατομία</i>	<i>29</i>
<i>Προσαγωγές και απαγωγές ίνες.....</i>	<i>33</i>
<i>Λειτουργικός ρόλος</i>	<i>37</i>
<i>Η αμυγδαλή ως μέρος του μεταχιακού συστήματος</i>	<i>39</i>
<i>Παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με την αμυγδαλή</i>	<i>41</i>
Αμυγδαλή και προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη (Prenatal Alcohol Exposure, PAE)	44
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	49
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	50
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	50
<i>Πειραματόζωα</i>	<i>50</i>
<i>Πρωτόκολλο έκθεσης στην αιθανόλη.....</i>	<i>51</i>
<i>Μονιμοποίηση των ιστών</i>	<i>52</i>
<i>Χρώση Nissl.....</i>	<i>53</i>
<i>Φωτογράφιση τομών και ανάλυση εικόνων</i>	<i>54</i>
<i>Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.....</i>	<i>55</i>
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	58
Επίδραση της PAE στην χρώση Nissl στην αμυγδαλή	58
<i>Έξω πυρήνας</i>	<i>60</i>
<i>Βασικός πυρήνας</i>	<i>60</i>
<i>Κεντρικός πυρήνας.....</i>	<i>61</i>
<i>Έσω πυρήνας.....</i>	<i>62</i>
<i>Φλοιώδης πυρήνας</i>	<i>63</i>
Επίδραση της PAE στο μέγεθος των πυρήνων της αμυγδαλής.....	63

ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
<i>ΡΑΕ και λειτουργικές επιπτώσεις στην αμυγδαλή.....</i>	<i>65</i>
<i>Σεξουαλικός διμορφισμός στις επιδράσεις της ΡΑΕ στην αμυγδαλή</i>	<i>68</i>
<i>Αξιοπιστία του μοντέλου ΡΑΕ της παρούσας μελέτης.....</i>	<i>69</i>
<i>Περιορισμοί της μελέτης</i>	<i>71</i>
<i>Συμπεράσματα.....</i>	<i>72</i>
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	73

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Ένα από τα πλέον επιζήμια αποτελέσματα της κατανάλωσης αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι ο κίνδυνος εμφάνισης εμβρυϊκού αλκοολικού συνδρόμου (Fetal Alcohol Syndrome, FAS) το οποίο σχετίζεται με μικροκεφαλία, μερική αγενεσία του μεσολοβίου και δυσπλασία εγκεφαλικών δομών όπως της παρεγκεφαλίδας, του εγκεφαλικού στελέχους, του μετωπιαίου λοβού, του ιπποκάμπου και των βασικών γαγγλίων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση πιθανής μακροχρόνιας αλλαγής στα σωμάτια Nissl και στο μέγεθος των πυρήνων της αμυγδαλής λόγω προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη.

Μέθοδοι: Sprague-Dawley επίμυες εκτέθηκαν προγεννητικά και 2 εβδομάδες μετά την γέννηση σε 15% αιθανόλη (Prenatal Alcohol Exposure, PAE) και θυσιάστηκαν σε ηλικία 2 μηνών. Στεφανιαίες τομές εγκεφάλου πάχους 10 μm χρώσθηκαν με Cresyl Violet για την ανίχνευση των σωμάτων Nissl. Το λογισμικό ImageJ χρησιμοποιήθηκε της έντασης σήματος χρώσης Nissl και του εμβαδού των παρακάτω πυρήνων της αμυγδαλής: έξω, βασικός, κεντρικός, έσω και φλοιώδης. Στατιστικές διαφορές μεταξύ PAE πειραματοζώων και μαρτύρων εξετάσθηκαν με το Student's t-test.

Αποτελέσματα: Η ένταση σήματος των σωμάτων Nissl και το εμβαδόν των πυρήνων της αμυγδαλής δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των επίμυων της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE ($p > 0,05$). Σημειώνεται ότι όλοι οι πυρήνες της αμυγδαλής των PAE επίμυων, με εξαίρεση τον έξω πυρήνα, παρουσίασαν μεγαλύτερη ένταση σήματος χρώσης Nissl σε σχέση με αυτούς των επίμυων της ομάδας ελέγχου χωρίς όμως η διαφορά αυτή να είναι στατιστικά σημαντική.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη δεν παρέχει ενδείξεις σημαντικών δομικών ή λειτουργικών αλλαγών στην αμυγδαλή μετά από προγεννητική και πρώιμη μεταγεννητική έκθεση στην αιθανόλη, δύο μήνες μετά την έκθεση στην αιθανόλη. Απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την επιβεβαίωση των παρόντων αποτελεσμάτων.

SUMMARY

Introduction: Alcohol consumption during pregnancy increases the risk of teratogenesis and occurrence of Fetal Alcohol Syndrome (FAS). FAS is linked to microencephaly, partial agenesis of the corpus callosum, and dysplasia of several brain structures including the cerebellum, the brainstem, the frontal cortex, the hippocampus and the basal ganglia.

Purpose: The present study aimed at exploring possible long-term alterations in Nissl body density and the total area within the amygdala nuclei following prenatal ethanol exposure.

Methods: Sprague-Dawley rats were exposed pre- and for 2 weeks postnatally to 15% alcohol (Prenatal Alcohol Exposure, PAE) and were sacrificed at 2 months of age. Brain slices (10 μ m) were stained with Cresyl Violet for the detection of Nissl bodies. The image analysis program ImageJ was used for the analysis of the intensity of Nissl staining and the area of amygdala nuclei. The amygdala nuclei analyzed were: lateral, basolateral-medial, central, medial and cortical. Statistical significance between treated and naïve animals was assessed with the Student's t-test.

Results: Amygdala Nissl body density and the surface area of the different amygdala nuclei was not significantly different between naïve animals and animals exposed to ethanol ($p>0.05$). Notably, all amygdala nuclei, except for the lateral nucleus, of the PAE animals exhibited higher, yet not statistically significant, intensity in Nissl staining compared to naïve animals.

Conclusion: The present study suggests that pre- and postnatal ethanol exposure does not lead to significant structural or functional alterations of the amygdala. Further experiments are required in order to further elucidate the effects of prenatal ethanol exposure in the amygdaloid complex.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αιθανόλη

Το αλκοόλ, μια από τις πλέον διαδεδομένες ουσίες που δυνητικά οδηγούν σε κατάχρηση, διαθέτει σοβαρές τερατογόνες δράσεις απειλητικές για τη δημόσια υγεία, και, ως εκ τούτου, παρουσιάζει μεγάλο κλινικό ενδιαφέρον. Το αλκοόλ επηρεάζει την υγεία του ανθρώπου με ποικίλους τρόπους, με το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) να είναι ιδιαίτερα ευάλωτο στην τοξικότητά του. Το 4% των συνολικών θανάτων που αποδίδονται στο αλκοόλ σχετίζεται με την εμφάνιση νευροψυχιατρικών διαταραχών όπως η επιληψία, η μονοπολική καταθλιπτική διαταραχή, η αγγειακή άνοια και η νόσος Alzheimer (Shield *et al.*, 2014; Mira *et al.*, 2019).

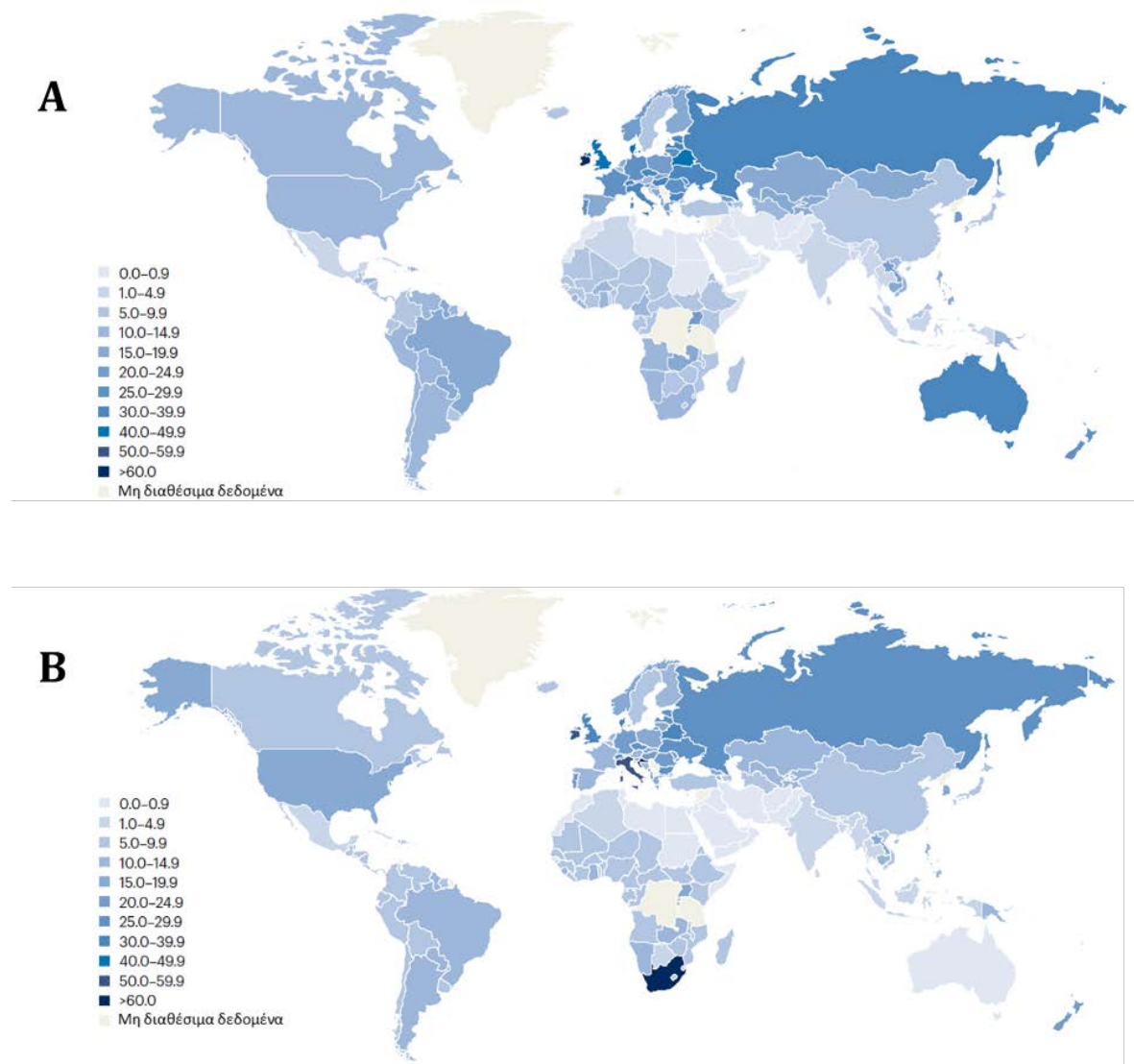
Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η κατανάλωση υψηλών ποσοτήτων αλκοόλης σε σύντομο χρονικό διάστημα (γνωστό και ως binge-like drinking) είναι μεγαλύτερη σε εγκυμονούσες σε σχέση με μη-εγκυμονούσες γυναίκες (Tan *et al.*, 2015). Η κατανάλωση αλκοόλ από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να προκαλέσει επιβλαβείς επιπτώσεις στην ανάπτυξη και τη συμπεριφορά του εγκεφάλου των απογόνων της. Το αλκοόλ μπορεί εύκολα να διαπεράσει τον πλακούντα με αποτέλεσμα να βλάψει τον εγκέφαλο και άλλα όργανα του αναπτυσσόμενου εμβρύου. Η χρήση αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης έχει καθιερωθεί ως παράγοντας κινδύνου για δυσμενή έκβαση της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένου της θνησιμότητας του εμβρύου, της αυτόματης αποβολής, του πρόωρου τοκετού, της ενδομήτριας καθυστέρησης της ανάπτυξης του εμβρύου και του χαμηλού βάρους του κατά τη γέννηση (Patra *et al.*, 2011). Μάλιστα, παρά την οδηγία οι γυναίκες να καταναλώνουν ελάχιστες έως μηδενικές ποσότητες αλκοόλ κατά την εγκυμοσύνη ή τον θηλασμό, μελέτες δείχνουν έλλειψη συμμόρφωσης στην οδηγία αυτή (Giglia and Binns, 2008).

Ένα από τα πιο επιζήμια αποτελέσματα της κατανάλωσης αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης είναι ο κίνδυνος εμφάνισης εμβρυϊκού αλκοολικού συνδρόμου (FAS), της πιο σοβαρής και εμφανώς αναγνωρίσιμης μορφής διαταραχής του φάσματος του εμβρυϊκού αλκοολικού συνδρόμου (Fetal Alcohol Syndrome Disorders, FASD). Οι

διαταραχές του φάσματος του εμβρυϊκού αλκοολικού συνδρόμου αναφέρονται σε μια σειρά από σωματικές, γνωστικές, συναισθηματικές και νευροσυμπεριφορικές επιδράσεις ως αποτέλεσμα της έκθεσης στο αλκοόλ κατά τη διάρκεια της κύησης. Συγκεκριμένα, η προγεννητική έκθεση στην αλκοόλη μπορεί να προκαλέσει κρανιοεγκεφαλικές ανωμαλίες, επιβράδυνση της ανάπτυξης, νευρολογικά προβλήματα, γνωσιακά ελλείματα και συγγενείς ανωμαλίες/διαμαρτίες (Wozniak *et al.*, 2019). Δυστυχώς, συχνά τα συμπτώματα της FASD δεν είναι εμφανή μέχρι τα πρώτα έτη εκπαίδευσης με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η ακριβής εκτίμηση του αριθμού ατόμων που έχουν προσβληθεί από FASD (Gil-Mohapel *et al.*, 2010). Επιδημιολογικές μελέτες αναφέρουν ότι περίπου το 1% των παιδιών στις ΗΠΑ γεννιούνται με FAS και το 2%-5% των παιδιών γεννιούνται με FASD (Pa *et al.*, 2009). Μάλιστα, σε πιο πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι ο παγκόσμιος επιπολασμός της κατανάλωσης αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης υπολογίζεται σε 9,8%, ενώ ο εκτιμώμενος επιπολασμός του FAS στο γενικό πληθυσμό είναι 14,6 ανά 10 000 άτομα (Porona *et al.*, 2017). Οι πέντε χώρες με την υψηλότερη συχνότητα κατανάλωσης αλκοόλ κατά την εγκυμοσύνη είναι η Ρωσία (36·5%), το Ηνωμένο Βασίλειο (41·3%), η Δανία (45·8%), η Λευκορωσία (46·6%), και η Ιρλανδία (60·4%) (Porona *et al.*, 2017). Στην ίδια μελέτη υπολογίζεται ότι μία στις 67 μητέρες που κατανάλωναν αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης γέννησε ένα παιδί με FAS, το οποίο μεταφράζεται σε περίπου 119.000 παιδιά που γεννιούνται με FAS στον κόσμο κάθε χρόνο. Τα δεδομένα αυτά αντλήθηκαν από επτά χώρες (Αυστραλία, Καναδάς, Κροατία, Γαλλία, Ιταλία, Νότια Κορέα και ΗΠΑ) για τις οποίες υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία όσον αφορά στον επιπολασμό τόσο της χρήσης αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης όσο και των FAS (**Εικόνα 1**) (Porona *et al.*, 2023).

Μελέτη που διεξήχθη σε περιοχή της Νότιας Αφρικής έδειξε ότι η κατανάλωση αλκοόλ κατά την εγκυμοσύνη συνδέεται με στατιστικώς σημαντική μείωση της πρόσληψης ορισμένων θρεπτικών συστατικών, όπως η ριβοφλαβίνη, η χολίνη και το ασβέστιο, η οποία ενδεχομένως οδηγεί σε αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση FASD (May *et al.*, 2014). Παρ' όλα αυτά, σε άλλη μελέτη, η οποία διεξήχθη στην ίδια περιοχή της Νότιας Αφρικής, αναφέρεται ότι η κατανάλωση αλκοόλ κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης

δεν συσχετίζεται με σημαντικές αλλαγές στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών ή στα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά της μητέρας. Η ίδια μελέτη συμπεραίνει ότι η κατανάλωση αλκοόλης κατά την κύηση δεν συνεπάγεται φτωχή διατροφική πρόσληψη και ότι η επίδραση της προγεννητικής έκθεσης στην αλκοόλη όσον αφορά



Εικόνα 1: Παγκόσμια επίπτωση (%) της (Α) κατανάλωσης αλκοόλ (οποιαδήποτε ποσότητα) κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και (Β) του FAS (ανά 1.000) στον γενικό πληθυσμό. Τροποποιημένη από (Porona *et al.*, 2023).

την ανάπτυξη και στη συμπεριφορά του παιδιού δεν είναι αποτέλεσμα φτωχής διατροφής (Carter *et al.*, 2017).

Πρόσφατη μελέτη συστηματικής ανασκόπησης στην οποία περιλήφθηκαν 26 μελέτες με συνολικά 5.894 παιδιά που εκτέθηκαν προγεννητικά σε αιθανόλη αναφέρεται μεγάλη συνοσηρότητα με ψυχιατρικά νοσήματα. Συγκεκριμένα, τα παιδιά με ΡΑΕ εμφανίζουν επιπολασμό 14,1% για κατάθλιψη και 7,8 για αγχώδη διαταραχή, ενώ ο επιπολασμός στον γενικό πληθυσμό παιδιών είναι 3,5% και 0,7% για κατάθλιψη και αγχώδη διαταραχή, αντίστοιχα (Weyrauch *et al.*, 2017).

Ζωικά μοντέλα προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη

Τα ζωικά μοντέλα αποτελούν αποτελεσματικά και αξιόπιστα εργαλεία για την πειραματική μελέτη των τερατογόνων επιδράσεων του αλκοόλ στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο και έχουν συνεισφέρει σημαντικά στην κατανόησή μας για το FASD. Γενικά, παρά το γεγονός ότι οι κλινικές και επιδημιολογικές μελέτες παρέχουν ανεκτίμητες πληροφορίες, περιορίζονται από ηθικά ζητήματα καθώς και από έναν μεγάλο αριθμό μεταβλητών οι οποίες αφενός είναι δύσκολο να ελεγχθούν πλήρως και αφετέρου μπορούν να τις περιπλέξουν. Στις παραμέτρους αυτές περιλαμβάνονται: η ταυτόχρονη κατανάλωση άλλων ουσιών και φαρμάκων πλέον της αλκοόλης, η διατροφή, η υγεία της μητέρας, το γενετικό υπόβαθρο, οι κοινωνικές ή κοινωνικοοικονομικές συνθήκες καθώς και πιθανές ασάφειες στις πληροφορίες που παρέχει η μητέρα. Αντίθετα, σε σωστά σχεδιασμένες πειραματικές μελέτες, γενικότερα, και του FASD ειδικότερα, είναι δυνατός ο έλεγχος όλων των μεταβλητών συμπεριλαμβανομένου και του προτύπου κατανάλωσης αλκοόλης (Kelly and Lawrence, 2008). Πράγματι, τα ζωικά μοντέλα επιτρέπουν τη μελέτη συγκεκριμένων προτύπων έκθεσης στο αλκοόλ όπως για παράδειγμα την χρόνια κατανάλωση μέτριων ποσοτήτων αλκοόλ έναντι της υπερβολικής κατανάλωσης σε σύντομο χρονικό διάστημα (binge-like drinking) καθώς επίσης και διάφορες παραμέτρους στα πρότυπα αυτά όπως: i) τον έλεγχο της χορηγούμενης δοσολογίας μέσω του προσδιορισμού της μέγιστης συγκέντρωσης του αλκοόλ στο αίμα (peak Blood Alcohol Concentration, BAC), ii) το αναπτυξιακό στάδιο και την διάρκεια της έκθεσης στην αλκοόλη και κυρίως iii) τη διερεύνηση των επιπτώσεων της κατανάλωσης αλκοόλ σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου ή

τύπων κυττάρων (Gil-Mohapel *et al.*, 2010; Bakhireva and Savage, 2011). Τα μοντέλα ζώων μιμούνται επίσης αρκετά καλά την ανθρώπινη κατάσταση και μάλιστα σε διάφορα ζωικά μοντέλα προγεννητικής έκθεσης στο αλκοόλ ποντικών, αρουραίων, ινδικών χοιριδίων ή πρωτεύοντων θηλαστικών έχουν εντοπιστεί ένα ή περισσότερα κύρια χαρακτηριστικά του ανθρώπινου FAS (ανωμαλίες των χαρακτηριστικών του προσώπου, της ανάπτυξης του ΚΝΣ αλλά και του οργανισμού γενικότερα) (Goodlett and Horn, 2001). Παρ' όλα αυτά, κατά αναλογία με την μεταβλητότητα που παρατηρείται στους ανθρώπους, δεν υπάρχει κανένα ζωικό μοντέλο που να μιμείται όλα τα κλασικά χαρακτηριστικά του FAS και του FASD, ενώ τα περισσότερα ζωικά μοντέλα που μιμούνται διαφορετικές πτυχές αυτής της διαταραχής υιοθετούν το πρότυπο της υπερβολικής κατανάλωσης σε σύντομο χρονικό διάστημα (Gil-Mohapel *et al.*, 2010). Πολλά κλινικά (Eckardt *et al.*, 1998) και πειραματικά (Choi *et al.*, 2005; Valenzuela *et al.*, 2012; Schambra *et al.*, 2015, 2017) δεδομένα, όμως, αναδεικνύουν τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ανωμαλιών στο αναπτυσσόμενο έμβρυο ακόμα και μετά από κατανάλωση χαμηλής ή μέτριας ποσότητας αλκοόλης κατά την κύηση. Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία στόχο έχει να προσομοιάσει αυτή την κατάσταση. Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται τα διάφορα μοντέλα που έχουν εφαρμοσθεί σε επίμυες (**Πίνακας 1**) (Gil-Mohapel *et al.*, 2010; Almeida *et al.*, 2020).

Πίνακας 1. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα διαφορετικών μοντέλων χορήγησης αλκοόλης που εφαρμόζονται σε επίμυες.

<i>Μέθοδος</i>	<i>Πλεονεκτήματα</i>	<i>Μειονεκτήματα</i>
Υγρή Δίαιτα	μειωμένος χρόνος και κόπος μειωμένο στρες πειραματοζώων χαμηλό και σταθερό BAC έλεγχος πρόσληψης διατροφής χρήση μόνο προγεννητικά	μη ελεγχόμενη δόση μη αντιστοιχία σε διαλειματική χρήση μη επίτευξη υψηλής BAC μη μεταγεννητική χρήση
Γαστρική διασωλήνωση	αντιστοιχία με διαλειματική χρήση δυνατότητα ελέγχου της δόσης αξιόπιστη υψηλή BAC έλεγχος πρόσληψης διατροφής & στρες χρήση προ- & μεταγεννητικά	επεμβατικό & στρεσογόνο χειρισμός των νεογνών απώλεια πειραματοζώων
Εισπνοή	υψηλή & σταθερή BAC χαμηλό στρες πειραματοζώων μειωμένος χρόνος και κόπος χρήση προ- & μεταγεννητικά	αποχωρισμός νεογνών από τις μητέρες μη έλεγχος πρόσληψης διατροφής απαίτηση ειδικού εξοπλισμού
Τεχνητή εκτροφή	χρήση μόνο μεταγεννητικά έλεγχος της δόσης μιμείται το τρίτο τρίμηνο	χρήση μόνο μεταγεννητικά αποχωρισμός νεογνών από τις μητέρες εξαιρετικά επεμβατικό απαίτηση ειδικού εξοπλισμού

Φαρμακοκινητική

Απορρόφηση – Κατανομή

Μετά την από του στόματος πρόσληψή της, η αλκοόλη απορροφάται ταχέως και πλήρως, και κατανέμεται στους περισσότερους ιστούς του οργανισμού προκαλώντας πληθώρα βιολογικών δράσεων. Διέρχεται ευχερώς τον αιματο-πλακουντιακό και τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό. Ο όγκος κατανομής της ισοδυναμεί με τον συνολικό όγκο υγρών του σώματος (0,5–0,7 L/kg).

Μεταβολισμός – Απέκκριση

Το ήπαρ αποτελεί το κύριο όργανο μεταβολισμού της αιθανόλης και είναι υπεύθυνο για την κάθαρση ποσοστού 90-98% της αιθανόλης, ενώ το υπόλοιπο 2-10% απεκκρίνεται μέσω των ούρων και των πνευμόνων. Τα ένζυμα που ενέχονται στον μεταβολισμό της αιθανόλης είναι:

1. Αλκοολική αφυδρογονάση (Alcohol dehydrogenase, ADH)

Αποτελεί οικογένεια κυτταροπλασματικών NAD^+ -εξαρτώμενων ενζύμων που εντοπίζονται κυρίως στο ήπαρ και στο έντερο και είναι υπεύθυνα για την μετατροπή της αιθανόλης σε ακεταλδεΐδη. Σε αυτά οφείλεται ο μεταβολισμός χαμηλών έως μέτριων δόσεων αιθανόλης. Λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας του συνενζύμου NAD^+ , η αντίδραση μεταβολισμού είναι *μηδενικής κινητικής τάξης* με αποτέλεσμα ο μεταβολισμός της αιθανόλης να περιορίζεται στα 7–10 g/h.

Η ακεταλδεΐδη που παράγεται στο στάδιο αυτό εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος προκαλώντας βλάβη σε βιομόρια του οργανισμού, όπως είναι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και τα νουκλεϊκά οξέα (Saavedra-Molina *et al.*, 2016). Οι γυναίκες παρουσιάζουν μικρότερο μεταβολισμό της αλκοόλης σε σχέση με τους άνδρες λόγω χαμηλής συγκέντρωσης αλκοολικής δεϋδρογονάσης. Επίσης, γενετικές διακυμάνσεις της ADH έχουν ως αποτέλεσμα τη διακύμανση του ρυθμού μεταβολισμού της αιθανόλης μεταξύ των ατόμων.

2. Μικροσωμικό σύστημα οξείδωσης της αιθανόλης (Microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS))

Σε επίπεδα αιθανόλης στο αίμα >100 mg/dL παρατηρείται κορεσμός της καταλυτικής δραστηριότητας της ADH με αποτέλεσμα ο μεταβολισμός της αιθανόλης να ακολουθεί εναλλακτική οδό, αυτή του συστήματος των μικροσωμικών οξειδωτικών ενζύμων του ήπατος και συγκεκριμένα του CYP2E1. Το CYP2E1 παρουσιάζει το φαινόμενο της επαγωγής με αποτέλεσμα η δραστηριότητα του να αυξάνει έως και 10 φορές μετά από χρόνια κατανάλωση αλκοόλ. Στην ενζυμική αυτή επαγωγή οφείλεται η αυξημένη κάθαρση της αλκοόλης και η ανάπτυξη ανοχής σε αυτήν (Quertemont, 2004).

3. Καταλάση

Το ένζυμο καταλάση οξειδώνει την αιθανόλη σε ακεταλδεΐδη στα υπεροξεισώματα με διαδικασία που εξαρτάται από το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Στην περιφέρεια η καταλάση παίζει, υπό φυσιολογικές συνθήκες, μικρό ρόλο στο μεταβολισμό της αιθανόλης. Αντίθετα, στον εγκέφαλο η καταλάση φαίνεται πως αποτελεί εναλλακτικό μεταβολικό μονοπάτι στην οξείδωση της αιθανόλης με τα ένζυμα ADH και CYP2E1 να παίζουν πολύ μικρό ρόλο στον μεταβολισμό της αιθανόλης. Παρόλο που ο ακριβής ρόλος της καταλάσης στο μεταβολισμό της αιθανόλης στον εγκέφαλο δεν έχει διερευνηθεί πλήρως (Quertemont, 2004), αυξημένα επίπεδα αιθανόλης στον εγκέφαλο οδηγούν σε υψηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 με αποτέλεσμα εκτεταμένες βλάβες ανάλογα με το βαθμό έκθεσης (βλ. παρακάτω) (**Εικόνα 2**).

4. Αλδεϋδική αφυδρογονάση (Aldehyde dehydrogenase, ALDH)

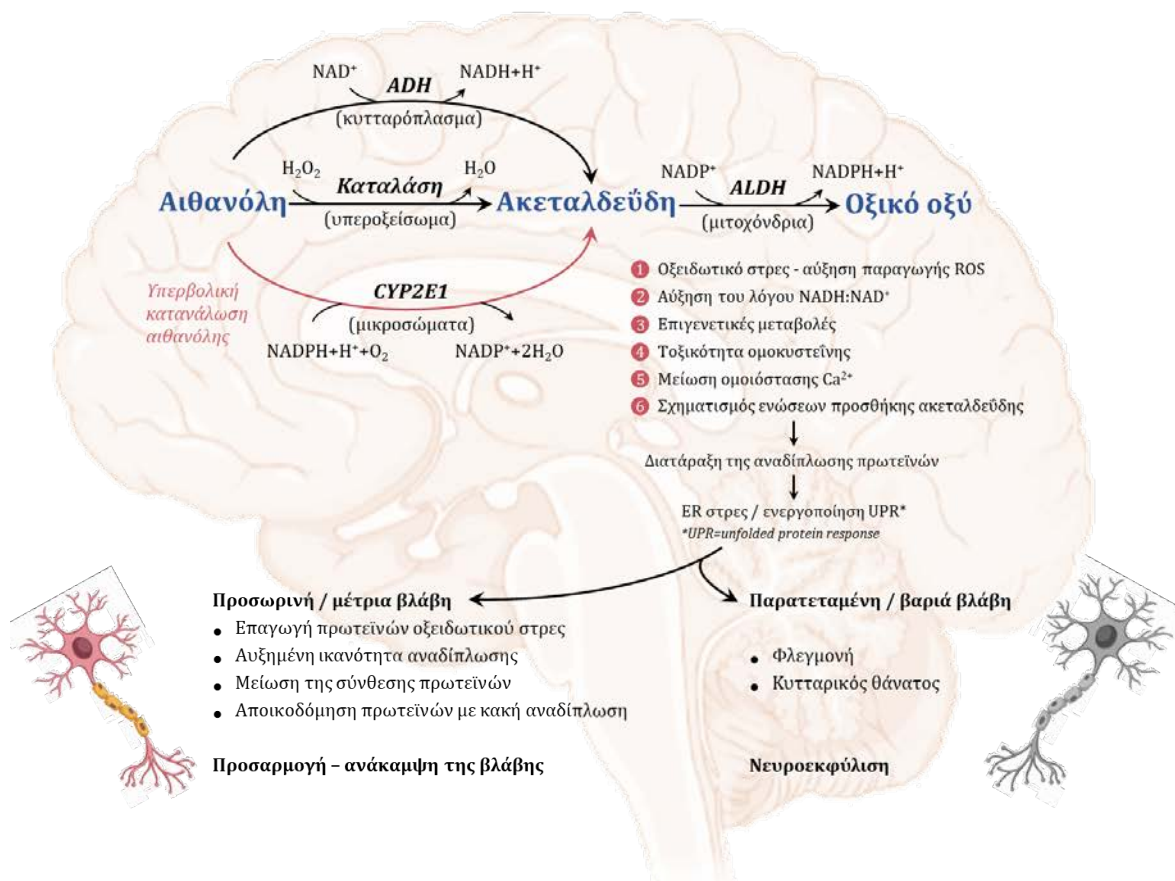
Η ακεταλδεΐδη η οποία σχηματίζεται από την οξείδωση της αιθανόλης υπό την επίδραση είτε της ADH είτε της MEOS μεταβολίζεται ταχέως σε οξικό οξύ υπό την επίδραση του ενζύμου αλδεϋδική αφυδρογονάση. Το μιτοχονδριακό αυτό ένζυμο εντοπίζεται στο ήπαρ και σε πολλούς άλλους ιστούς (Zakhari, 2013). Άτομα, κυρίως Ασιατικής καταγωγής, παρουσιάζουν γενετική έλλειψη του ενζύμου με αποτέλεσμα να αντιμετωπίζουν ανεπιθύμητες ενέργειες, όπως ναυτία και ερυθρότητα προσώπου, οι οποίες αποδίδονται στη συσσώρευση της ακεταλδεΐδης ακόμα και μετά την κατανάλωση μικρών ποσοτήτων αιθανόλης. Η αλδεϋδική αφυδρογονάση αναστέλλεται από τη δισουλφιράμη και από άλλα φάρμακα όπως η μετρονιδαζόλη, τα από του στόματος υπογλυκαιμικά και οι κεφαλοσπορίνες.

Στον μεταβολισμό της αιθανόλης περιλαμβάνεται και το μη-οξειδωτικό μονοπάτι. Παρουσία λιπαρών οξέων, η αιθανόλη μεταβολίζεται σε αιθυλεστέρες λιπαρών οξέων (Fatty Acid Ethyl Ester, FAEE) από την αντίστοιχη συνθάση, ενώ το ειδικό ένζυμο της φωσφατιδυλοχολίνης, φωσφολιπάση D, ενέχεται στην παραγωγή φωσφατιδυλο-αιθανόλης από την αιθανόλη (Mandal *et al.*, 2017). Παράλληλα, παράγονται προϊόντα σύζευξης, όπως γλυκουρονίδια και σουλφίδια, υπό την επενέργεια των ενζύμων ουριδινο-διφωσφογλυκουρονυλ-τρανσφεράση (UDPGT) και σουλφοτρανσφεράση (ST), αντίστοιχα (Mandal *et al.*, 2017; Hyun *et al.*, 2021).

Μεταβολισμός της αιθανόλης στον εγκέφαλο

Η ακεταλδεΐδη, αντίθετα με την αλκοόλη, δεν διέρχεται ευχερώς τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό αλλά παράγεται από τον μεταβολισμό της αιθανόλης μέσω μεταβολικών ενζύμων που εντοπίζονται στον εγκέφαλο (Zimatkin and Deitrich, 1997). Μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι ο μεταβολισμός της αιθανόλης στον εγκέφαλο διενεργείται κυρίως μέσω του ενζύμου καταλάση στα υπεροξεισώματα (60%) (Hamby-Mason *et al.*, 1997), και δευτερευόντως από το μικροσωμιακό ένζυμο CYP2E1 (20%) και από το κυτταροπλασματικό ένζυμο αλκοολική αφυδρογονάση (20%) (Zimatkin *et al.*, 2006; Heit *et al.*, 2013). Περαιτέρω, επιβεβαιώθηκε η οξείδωση της ακεταλδεΐδης από την αλδεϋδική αφυδρογονάση (Zimatkin *et al.*, 2006).

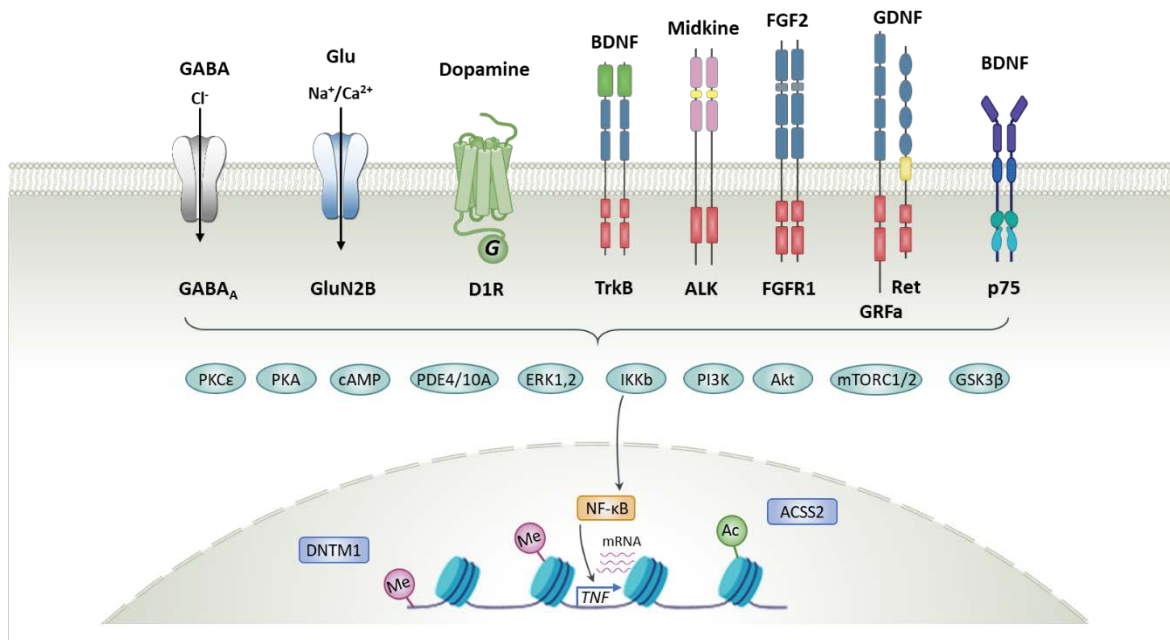
Αντίθετα με το ήπαρ, το κύριο ένζυμο μεταβολισμού της αιθανόλης στον εγκέφαλο είναι η καταλάση (**Εικόνα 2**). Η παραγόμενη ακεταλδεΐδη εισέρχεται στους νευρώνες και τα αστροκύτταρα από ειδικούς μεταφορείς (monocarboxylase transporters, MCT1 & MCT2) (Waddell *et al.*, 2022). Ειδικότερα, η μετατροπή της σε οξικό οξύ, από το ένζυμο ALDH2 των μιτοχονδρίων των αστροκυττάρων, φέρεται να είναι υπεύθυνη για τις βλαπτικές δράσεις της αλκοόλης όπως είναι η παραγωγή ελευθέρων ριζών, η υπερ-ακετυλίωση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών και ο κατακερματισμός των μιτοχονδρίων, θέτοντας τα μιτοχόνδρια των αστροκυττάρων στο επίκεντρο των τοξικών επιδράσεων της αιθανόλης στον εγκέφαλο (Waddell *et al.*, 2022). Επίσης, η μείωση των επιπέδων του NAD⁺, το οποίο συμμετέχει στην επισκευή βλάβης του DNA, ως αποτέλεσμα του μεταβολισμού της αλκοόλης συνδέεται με τη γήρανση και την εμφάνιση σχετιζόμενων ασθενειών (Waddell *et al.*, 2022; Wen *et al.*, 2022).



Εικόνα 2. Μεταβολισμός της αιθανόλης. Η αιθανόλη απορροφάται ευχερώς από το γαστρεντερικό σύστημα και μεταβολίζεται στο ήπαρ σε ακεταλδεΰδη υπό την επίδραση της ADH με ταυτόχρονη παραγωγή της οξειδωμένης μορφής του νικοτιναμιδίου (NAD^+) στην ανηγμένη του μορφή ($NADPH$) αυξάνοντας την αντιοξειδωτική του ικανότητα. Αντίθετα με το ήπαρ, το κύριο ένζυμο μεταβολισμού της αιθανόλης προς ακεταλδεΰδη στον εγκέφαλο είναι η καταλάση. Η ακεταλδεΰδη, υπό την επίδραση του ενζύμου ALDH των μιτοχονδρίων, μεταβολίζεται σε οξικό οξύ. Μετά από υπέρμετρη ή χρόνια κατανάλωση υπέρμετρων ποσοτήτων η αιθανόλη μεταβολίζεται από το μικροσωμικό σύστημα οξείδωσης CYP2E1 του ενδοπλασματικού δικτύου με ταυτόχρονη μετατροπή της ανηγμένης μορφής του νικοτιναμιδίου $NADPH$ στην οξειδωμένη του μορφή $NADP^+$ δημιουργώντας ένα οξειδωτικό περιβάλλον παραγωγής δραστικών ριζών οξυγόνου (ROS) καθώς και σωρεία άλλων βλαπτικών παραγόντων που οδηγούν σε προσωρινή ή μόνιμη βλάβη των νευρώνων ανάλογα με τον βαθμό έκθεσης στην αιθανόλη.

Φαρμακοδυναμική

Η αιθανόλη αποτελεί ένα χαμηλού μοριακού βάρους φάρμακο με διαλυτότητα τόσο στο νερό όσο και στα λιπίδια (Deitrich *et al.*, 1989). Η διαλυτότητα της στα λιπίδια οδήγησε αρχικά στην υπόθεση ότι η αιθανόλη δρα διαταράσσοντας τις κυτταρικές μεμβράνες και δευτερευόντως στις κυτταρικές πρωτεΐνες, παρόλο που δεν έχουν ταυτοποιηθεί μέχρι σήμερα ειδικοί υποδοχείς της αιθανόλης. Έτσι, η αρχική θεωρία σχετικά με τον μηχανισμό δράσης της αιθανόλης, όπως και άλλων κατασταλτικών του ΚΝΣ συμπεριλαμβανομένων των γενικών αναισθητικών, εστίαζε σε επιδράσεις στη ρευστότητα της κυτταρικής μεμβράνης (Samson and Harris, 1992). Αργότερα, με την εξέλιξη της έρευνας σχετικά με τη μοριακή δομή των πρωτεϊνών και την άμεση επίδραση ουσιών στις πρωτεΐνες αυτές έγινε σαφές ότι η αιθανόλη τροποποιεί τη δραστηριότητα πολλών διαύλων ιόντων, υποδοχέων και ενζύμων με αποτέλεσμα αλλαγές στη συναπτική λειτουργία και την πλαστικότητα (Harris *et al.*, 1995; Vengeliene *et al.*, 2008). Η ανασταλτική δράση της αιθανόλης οφείλεται πρωταρχικά στην αλληλεπίδρασή της με τον δίαυλο Cl^- των GABA_A υποδοχέων. Το επακριβές σημείο αλλά και ο τρόπος δράσης της στον δίαυλο αυτό δεν είναι γνωστά, ωστόσο φαίνεται πως επαυξάνει τη δράση του GABA με αποτέλεσμα την υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης. Επίσης, η κατασταλτική δράση της αιθανόλης είναι αποτέλεσμα της αναστολής της σύνδεσης του γλουταμικού οξέος με τους αντίστοιχους υποδοχείς N-methyl-D-aspartate (NMDARs), καϊνικού (KARs), AMPA (AMPA) και μεταβοτροπικούς (mGluRs), οδηγώντας σε μείωση της εισροής ιόντων Na^+ και Ca^{++} στους νευρώνες, μείωση της διεγερτικής δράσης του γλουταμικού οξέος και αύξηση της αναστολής των νευρώνων. Τέλος, η αιθανόλη ενεργοποιεί υποδοχείς νευροπεπτιδίων και νευροτροφικών παραγόντων με αποτέλεσμα την τροποποίηση της δραστηριότητας ενδοκυττάρων σηματοδοτικών μονοπατιών (π.χ. αδενυλική κυκλάση, φωσφοκινάση A) οδηγώντας σε μακροχρόνιες αλλαγές στην λειτουργία των κυττάρων (Egervari *et al.*, 2021). Στον πυρήνα του κυττάρου, η αιθανόλη προκαλεί επιγενετική ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων μέσω τροποποίησης του DNA και των ιστονών (π.χ. μεθυλίωση, ακετυλίωση) επηρεάζοντας τη λειτουργία των νευρωνικών δικτύων (**Εικόνα 3**) (Mandal *et al.*, 2017; Almeida *et al.*, 2020).



Εικόνα 3. Μηχανισμοί δράσης της αιθανόλης. Η αιθανόλη προκαλεί μακροχρόνιες αλλαγές στα κύτταρα αλληλοεπιδρώντας σε υποδοχείς-διαύλους (GABA_A, γλουταμινεργικοί πχ GluN2B), υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G (ντοπαμίνη, D1R) καθώς και σε υποδοχείς νευροπεπτιδίων και νευροτροφικών παραγόντων επηρεάζοντας διάφορους ενδοκυττάριους δεύτερους αγγελιοφόρους και πολλαπλά σηματοδοτικά μονοπάτια. Στο αναπτυσσόμενο έμβρυο η αιθανόλη προκαλεί επιγενετική ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων μέσω τροποποίησης του DNA και των ιστονών (πχ μεθυλίωση, ακετυλίωση) του πυρήνα των κυττάρων σε ανωμαλίες στην ανάπτυξη του εμβρύου (τροποποιημένη φωτογραφία E. Ασπροδίνη).

Συντμήσεις: **ACSS2**, acetyl-CoA synthetase 2; **ALK**, anaplastic lymphoma kinase; **BDNF**, brain-derived neurotrophic factor; **CRMP2**, collapsing response mediator protein family 2; **D1R**, dopamine receptor D1; **DNTM1**, DNA methyltransferase 1; **ERK1/2**, extracellular signal-regulated kinase 1/2; **FGF2**, fibroblast growth factor 2; **FGFR1**, FGF receptor 1; **GABA_A**, γ-aminobutyric acid receptor A; **GDNF**, glial-derived neurotrophic factor; **GFRa1**, GDNF family receptor α1; **GluN2B**, glutamate N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2B; **GSK3β**, glycogen synthase kinase 3b; **IKKb**, inhibitor of nuclear factor κB kinase subunit β; **mTORC1/2**, mammalian target of rapamycin complex; **PDE**, phosphodiesterase; **NF-κB**, nuclear factor κB; **PKA**, protein kinase A; **PKCε**, protein kinase Cε; **PI3K**, phosphoinositide-3-kinase; **Ret**, rearranged during transfection; **TNF**, tumor necrosis factor.

Οξείες και χρόνιες επιδράσεις της αιθανόλης στον οργανισμό

Τα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού στην πλειονότητά τους επηρεάζονται από την έκθεση στην αιθανόλη και οι επιδράσεις αυτής μπορεί να είναι οξείες ή χρόνιες. (Katzung and Trevor, 2021).

Οξείες Επιδράσεις

› Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)

Οι βασικές επιδράσεις της αιθανόλης στο ΚΝΣ περιλαμβάνουν την καταστολή, την απώλεια της αναστολής, την εξασθενημένη κρίση, τη θολή ομιλία και την αταξία. Επιπλέον επιπτώσεις σύμφωνα με τη συγκέντρωση της αιθανόλης στο αίμα συνοψίζονται στον **Πίνακα 2**.

Πίνακας 2: Πιθανές επιδράσεις της αιθανόλης στο ΚΝΣ ανάλογα με τη συγκέντρωσή της στο αίμα.

Συγκέντρωση αιθανόλης στο αίμα (mg/dL)	Πιθανή επίδραση στο ΚΝΣ
60-80	μείωση ικανότητας οδήγησης
120-160	υπερβολική μέθη
>300	απώλεια συνείδησης, κώμα, αναπνευστική-καρδιαγγειακή καταστολή
>500	πρόκληση θανάτου

Σε άτομα εξαρτημένα από το αλκοόλ η ανεκτικότητα αυξάνεται έχοντας ως αποτέλεσμα τη διατήρηση της λειτουργικότητάς τους ακόμα και σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης στο αίμα (ανοχή). Οι μοριακοί μηχανισμοί που ευθύνονται για τις επιπτώσεις αυτές δεν είναι γνωστοί στο σύνολό τους. Ενώ δεν έχουν βρεθεί ειδικοί υποδοχείς για την αιθανόλη, η λειτουργία της φαίνεται να σχετίζεται με τη ρύθμιση ορισμένων πρωτεϊνών σηματοδότησης. Βοηθά τη δράση του GABA στους υποδοχείς GABA_A, αναστέλλει τη δράση του γλουταμικού οξέος, το οποίο κανονικά ενεργοποιεί τους υποδοχείς NMDA (N-methyl-d-aspartate), και μεταβάλλει τις δράσεις της αδενυλκυκλοκλάσης C, και των διαύλων ιόντων (Katzung and Trevor, 2021).

› Άλλα συστήματα οργάνων

Εξαιτίας της αιθανόλης, ακόμα και σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις στο αίμα, η λειτουργία της καρδιάς καταστέλλεται, ενώ λόγω της χαλάρωσης των λείων μυών των αγγείων γίνεται αγγειοδιαστολή και ορισμένες φορές αυτό οδηγεί σε έντονη υποθερμία.

Χρόνιες επιδράσεις

Με την πάροδο του χρόνου το ΚΝΣ προσαρμόζεται και ο μεταβολισμός της αιθανόλης αυξάνεται (σε πιο μικρό βαθμό), οπότε αναπτύσσεται ανοχή στο αλκοόλ και η εξάρτηση σε αυτό είναι ισχυρή τόσο ψυχολογικά όσο και σωματικά (Koob and Volkow, 2016).

› Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)

Η συχνότερη συνέπεια της χρόνιας κατανάλωσης αλκοόλ είναι η περιφερική νευροπάθεια (Dudek *et al.*, 2020). Επίσης συχνή είναι η έλλειψη θειαμίνης, η οποία μπορεί να οδηγήσει στο σύνδρομο Wernicke-Korsakoff (Sechi and Serra, 2007). Το σύνδρομο αυτό περιλαμβάνει ως συμπτώματα την αταξία, τη σύγχυση και την παράλυση των εξοφθάλμιων μυών και η άμεση χορήγηση θειαμίνης είναι απαραίτητη για την αποφυγή μόνιμου ελλείματος μνήμης, γνωστό ως ψύχωση του Korsakoff (Harper, 2009).

› Ήπαρ

Η πιο συνήθης επίπτωση είναι η ηπατική νόσος, η οποία εξελίσσεται από αναστρέψιμο λιπώδες ήπαρ σε μη αναστρέψιμη ηπατίτιδα, κίρρωση του ήπατος και τελικά ηπατική ανεπάρκεια (Singal *et al.*, 2018).

› Γαστρεντερικό σύστημα

Το τοίχωμα του εντέρου μπορεί να παρουσιάσει ερεθισμό, φλεγμονή, αιμορραγία ή και ουλές, παρενέργειες οι οποίες οδηγούν σε μείωση της απορρόφησης και κατ' επέκταση σε επιδείνωση διατροφικών ελλείψεων (Bode and Bode, 2003). Επιπλέον, ο κίνδυνος εμφάνισης παγκρεατίτιδας αυξάνεται σημαντικά με τη χρόνια έκθεση στην αιθανόλη (Yadav and Lowenfels, 2013).

› Ενδοκρινικό σύστημα

Εξαιτίας της κίρρωσης του ήπατος μεταβάλλεται ο μεταβολισμός των στεροειδών και εμφανίζονται συμπτώματα όπως είναι η γυναικομαστία, η ατροφία των όρχεων και η κατακράτηση άλατος (Van Thiel *et al.*, 1987).

› Καρδιαγγειακό σύστημα

Πιθανές επιπτώσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα είναι η υπέρταση, η αναιμία και η διάταση του μυοκαρδίου, ενώ η μεγάλη κατανάλωση αλκοόλ σε μικρό χρονικό διάστημα μπορεί να οδηγήσει σε αρρυθμία (Klatsky, 2015). Ωστόσο, έχει βρεθεί πως η κατανάλωση ημερησίως μικρής ποσότητας αλκοόλης της τάξης των 10 έως 15g έχει προστατευτική δράση στα στεφανιαία αγγεία καθώς αυξάνει τα επίπεδα HDL χοληστερόλης (Brien *et al.*, 2011).

› Το εμβρυϊκό αλκοολικό σύνδρομο

Η προγεννητική έκθεση στην αλκοόλη μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη νοητική στέρηση, τα αναπτυξιακά ελλείματα, την μικροεγκεφαλία, τη μείωση της ανάπτυξης της κεντρικής περιοχής του προσώπου ή και την τερατογένεση του απογόνου (May and Gossage, 2011).

› Νεοπλασία

Η χρόνια κατανάλωση αλκοόλης είναι συνδεδεμένη με αυξημένη εμφάνιση νεοπλασιών του γαστρεντερικού συστήματος και σε μικρότερο βαθμό καρκίνου του μαστού (Bagnardi *et al.*, 2015).

› Ανοσοποιητικό σύστημα

Εξαιτίας της φλεγμονής του ήπατος και του παγκρέατος αλλά και της παύσης της δράσης του ανοσοποιητικού σε άλλους ιστούς παρατηρείται μια ανοσοκαταστολή και μπορεί η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλης να αποτελέσει προδιαθεσικό παράγοντα για πνευμονία (Szabo and Saha, 2015).

Αμυγδαλή

Η αμυγδαλή ή αμυγδαλοειδές σώμα, της οποίας το όνομα προερχόμενο από την ελληνική λέξη «αμύγδαλο» οφείλεται στο αμυγδαλοειδές της σχήμα, αποτελεί αμφοτερόπλευρη δομή του εγκεφάλου και εντοπίζεται στη βάση του κροταφικού λοβού, προσθίως του κατώτερου κέρατος της πλάγιας κοιλίας. Η αμυγδαλή συνιστά σύμπλεγμα πυρήνων το οποίο έχει σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία συναισθημάτων θυμού και φόβου, αλλά και θετικών συναισθημάτων, στις διαδικασίες μνήμης και μάθησης, στη ρύθμιση αυτόνομων λειτουργιών (Sah *et al.*, 2003) καθώς και στην παθοφυσιολογία πολλών ασθενειών όπως είναι η επιληψία, η σχιζοφρένεια, η νόσος του Alzheimer, η αγχώδης διαταραχή και η κατάθλιψη (Mohammadi *et al.*, 2013).

Εμβρυογένεση

Η εμβρυογένεση της αμυγδαλής είναι μια σύνθετη διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει την αρχική προέλευσή της από τον τελεγκέφαλο, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση κυτταρικών πληθυσμών, τη διαφοροποίηση των επιμέρους πυρήνων της, καθώς και τη δημιουργία συνδέσεων με άλλες δομές του εγκεφάλου (Šimić *et al.*, 2021a; Mulc *et al.*, 2024). Η κατανόηση αυτών των διεργασιών είναι εξέχουσας σημασίας τόσο για την ερμηνεία της δομικής πολυπλοκότητας και της λειτουργίας της αμυγδαλής, όσο και για την ερμηνεία των παθολογικών καταστάσεων που συνδέονται με τη δυσλειτουργία της (Tottenham, 2009; Janak and Tye, 2015).

› Προέλευση από τον τελεγκέφαλο

Η αμυγδαλή σχηματίζεται από τον πρόσθιο εγκέφαλο (forebrain) και συγκεκριμένα από τον τελεγκέφαλο. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου ο τελεγκέφαλος αποτελείται από δύο κύρια τμήματα: τον χιτώννα (pallium), που βρίσκεται ραχιαία και από το οποίο προκύπτουν φλοιώδεις δομές και τον υποχιτώννα (subpallium), που βρίσκεται κοιλιακά και από τον οποίο προκύπτουν δομές σχετικές με τα βασικά γάγγλια (Remedios *et al.*, 2007; Medina *et al.*, 2023). Χαρακτηριστικό γνώρισμα της αμυγδαλής είναι η ενσωμάτωση κυτταρικών πληθυσμών και από τις δύο αυτές περιοχές, έχοντας σαν αποτέλεσμα μια υβριδική κυτταρική σύνθεση που τη διαχωρίζει από άλλα τμήματα του εγκεφάλου με αμιγώς φλοιώδη ή ραβδωτά χαρακτηριστικά

(McDonald, 1998; Yu *et al.*, 2023). Από τον χιτώνα προέρχονται οι γλουταμινεργικοί προβλητικοί νευρώνες του βασικού πυρήνα, ενώ από τον υποχιτώνα, και ειδικά από τις γαγγλιακές προεξοχές (ganglionic eminences), προέρχονται οι GABAεργικοί νευρώνες του κεντρικού πυρήνα (Lischinsky *et al.*, 2017). Η ρύθμιση της μοριακής ταυτότητας των παραπάνω περιοχών βασίζεται στους μεταγραφικούς παράγοντες Pax6 και Nkx2.1 και η διαφοροποίηση των νευρωνικών πληθυσμών στα γονίδια Dlx και Tbr1 (Lischinsky *et al.*, 2017; Yu *et al.*, 2023).

› Κυτταρικός πολλαπλασιασμός και μετανάστευση

Η νευρογένεση της αμυγδαλής ακολουθεί ένα συγκεκριμένο χρονοδιάγραμμα κατά το οποίο ενσωματώνονται σε αυτήν κυτταρικοί πληθυσμοί από τις δύο περιοχές του τελεγκέφαλου. Στον ανθρώπινο εγκέφαλο αυτό συμβαίνει από την 5^η περίπου εβδομάδα της κύησης έως και το δεύτερο τρίμηνο, ενώ στα τρωκτικά η πλειονότητα των νευρώνων της αμυγδαλής σχηματίζεται μεταξύ της 12^{ης} και της 16^{ης} ημέρας της εμβρυϊκής ανάπτυξης (Aerts and Seuntjens, 2021; Mulc *et al.*, 2024). Οποιαδήποτε διαφοροποίηση στον ρυθμό ή την έκταση της νευρογένεσης μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το μέγεθος και την κυτταρική δομή των πυρήνων της αμυγδαλής.

Οι νευρώνες που προέρχονται από τις προγονικές περιοχές του χιτώνα κατά βάση μεταναστεύουν ακτινικά (radial migration), έχοντας σαν οδηγούς ακτινικά γλοιικά κύτταρα, προς την περιοχή του βασικού πυρήνα. Οι νευρώνες που προέρχονται από τις περιοχές του υποχιτώνα μεταναστεύουν εφαπτομενικά, παράλληλα προς τον φλοιό (tangential routes), διανύοντας μεγάλες αποστάσεις ώστε να φτάσουν στον κεντρικό πυρήνα και τις σχετικές με αυτόν δομές (Remedios *et al.*, 2007). Οι δύο αυτές διαφορετικές πορείες συμβάλλουν στην ετερογένεια των κυτταρικών πληθυσμών της αμυγδαλής. Η ρύθμιση της κατεύθυνσης και η ενσωμάτωση των νευρώνων πραγματοποιούνται με τη βοήθεια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, όπως είναι η N-καδερίνη, και συστημάτων καθοδήγησης, όπως είναι τα Slit-Robo και Semaphorin-Neuropilin (Medina *et al.*, 2023; Yu *et al.*, 2023). Σε περίπτωση διαταραχής των παραπάνω διαδικασιών μπορεί να προκύψει ανώμαλη ανάπτυξη της αμυγδαλής και κατά συνέπεια εμφάνιση νευροαναπτυξιακών διαταραχών (Janak and Tye, 2015).

› Διαφοροποίηση των Πυρήνων της Αμυγδαλής

Με την πρόοδο των διαδικασιών διαφοροποίησης και μετανάστευσης των κυτταρικών πληθυσμών η αμυγδαλή αρχίζει να αποκτά τη χαρακτηριστική δομή των πυρήνων της. Οι τρεις κύριοι πυρήνες που διακρίνονται στο μέσο της κύησης στον άνθρωπο και στα τέλη του εμβρυϊκού σταδίου στα τρωκτικά, είναι ο βασικός (BLA), ο κεντρικός (Ce) και ο φλοιώδης (Co). Η περιοχή του βασικού πυρήνα, αποτελούμενη κυρίως από γλουταμινεργικούς προβλητικούς νευρώνες, δομικά είναι όμοια με τον εγκεφαλικό φλοιό λόγω της προέλευσής του από τον χιτώνα και παρουσιάζει σημαντική ανάπτυξη κατά τα τελευταία στάδια της εμβρυογένεσης (McDonald, 1998). Ο κεντρικός πυρήνας, αποτελούμενος κατά βάση από GABAεργικούς νευρώνες, προέρχεται από προγονικά νευρικά κύτταρα της μεσογαγγλιακής περιοχής (ganglionic eminence) του υποχιτώνα και γι' αυτόν το λόγο η πορεία της ανάπτυξής του είναι όμοια με αυτήν των δομών του ραβδωτού σώματος (Lischinsky *et al.*, 2017). Ο φλοιώδης πυρήνας της αμυγδαλής, ο οποίος βρίσκεται στην έσω επιφάνεια, προέρχεται από έσω περιοχές του χιτώνα και έχει κοινά εξελικτικά και αναπτυξιακά χαρακτηριστικά με περιοχές του οσφρητικού φλοιού.

Μεταγραφικοί παράγοντες που συντονίζουν τις διαδικασίες μοριακής ωρίμανσης και εξειδίκευσης των πυρήνων είναι οι *Tbr1* και *Emx1* για τις δομές του χιτώνα και οι *Dlx1/2* και *Nkx2.1* για τις δομές του υποχιτώνα (Yu *et al.*, 2023). Η αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των ρυθμιστών διασφαλίζει τη δημιουργία διακριτών, αλλά παράλληλα συνδεδεμένων, νευρωνικών πληθυσμών. Μέχρι το πέρας της εμβρυογένεσης, οι πυρήνες παρουσιάζουν πρώιμα μοτίβα συνδεσιμότητας η οποία τελειοποιείται κατά τη μεταγεννητική περίοδο.

› Ανάπτυξη της συνδεσιμότητας

Η λειτουργική ωρίμανση της αμυγδαλής δεν βασίζεται μόνο στη διαφοροποίηση των πυρήνων της, αλλά και στη σταδιακή εγκαθίδρυση εκτεταμένων δικτύων συνάψεων. Κατά την εμβρυογένεση, πρωταρχικοί άξονες εκτείνονται από την αμυγδαλή προς κύριες μεταιχμιακές και φλοιώδεις δομές, δημιουργώντας ένα πρωταρχικό δίκτυο συνδέσεων του οποίου η εξέλιξη ευθύνεται για τη διαμόρφωση συναισθηματικών και

κοινωνικών συμπεριφορών. Στον άνθρωπο, οι πρώτες προβολές σχηματίζονται κατά το δεύτερο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, ενώ στα τρωκτικά η αρχική συνδεσιμότητα διαμορφώνεται κατά τα τελευταία στάδια της εμβρυϊκής περιόδου και τα πρώτα στάδια της μεταγεννητικής περιόδου (Qiu *et al.*, 2015; Mulc *et al.*, 2024).

Οι νευράξονες της περιοχής του βασικού πυρήνα εκτείνονται προς τον ιππόκαμπο και τον ενδορινικό φλοιό, δημιουργώντας συνδέσεις απαραίτητες για τη μνήμη και τη μάθηση. Ο κεντρικός πυρήνας σχηματίζει απαγωγές συνδέσεις με τον υποθάλαμο και το εγκεφαλικό στέλεχος, εδραιώνοντας αυτόνομες και συμπεριφορικές αντιδράσεις σε ερεθίσματα κινδύνου (McDonald, 1998; Janak and Tye, 2015). Προσαγωγές ίνες φτάνουν στην αμυγδαλή από τον θάλαμο και τον προμετωπιαίο φλοιό μεταφέροντας αισθητηριακά ερεθίσματα και πληροφορίες για την αντίληψη απειλών. Η πορεία των αξόνων ρυθμίζεται από μόρια όπως είναι οι Eph/ephrins, οι netrins και οι σεμαφορίνες (semaphorins), ενώ η ωρίμανση των συνάψεων υποστηρίζεται από νευροτροφικούς παράγοντες όπως ο BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) (Tottenham, 2009). Κάθε παρέκκλιση αυτών των οδών σηματοδότησης μπορεί να οδηγήσει σε αποκλίνουσα συνδεσιμότητα και κατ' επέκταση στην εμφάνιση αναπτυξιακών και συμπεριφορικών διαταραχών.

› Κλινική σημασία

Η εμβρυογένεση της αμυγδαλής στα σπονδυλωτά έχει κοινούς μηχανισμούς με ειδικές διαφοροποιήσεις, ωστόσο, για το κάθε είδος. Στα τρωκτικά η αμυγδαλή είναι μικρότερη σε μέγεθος και η διαφοροποίηση των νευρώνων της λιγότερο εκτεταμένη, ενώ στον άνθρωπο, ο βασικός πυρήνας αποκτά μεγαλύτερο μέγεθος, αντανakλώντας την αυξημένη σημασία του ρόλου της αμυγδαλής όσον αφορά τις σύνθετες διαδικασίες επεξεργασίας συναισθημάτων και κοινωνικής συμπεριφοράς. Επιπροσθέτως, ενώ ένα σημαντικό μέρος της συνδεσιμότητας της αμυγδαλής στα τρωκτικά ολοκληρώνεται κατά τη μεταγεννητική περίοδο, στον άνθρωπο οι κύριες διασυνδέσεις τελειοποιούνται προγεννητικά (Šimić *et al.*, 2021a; Mulc *et al.*, 2024).

Κατά την εμβρυογένεση της αμυγδαλής, περίοδος η οποία χαρακτηρίζεται από αυξημένη αναπτυξιακή ευαλωτότητα, μπορεί να διαταραχθεί η ομαλή ανάπτυξη της

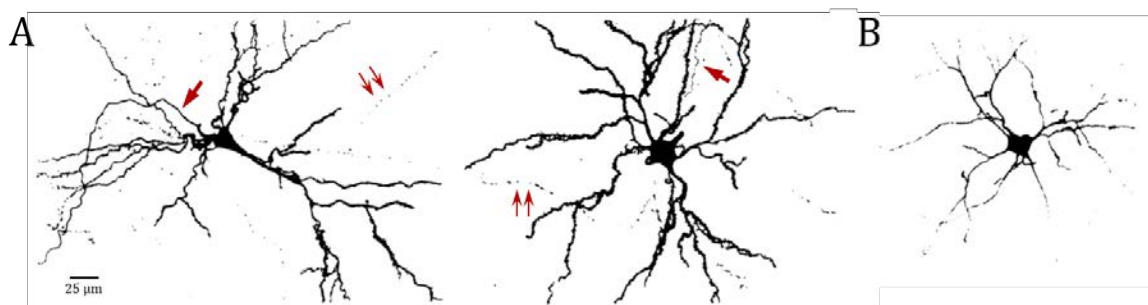
και αυτό να έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση νευροαναπτυξιακών ή και ψυχιατρικών παθήσεων. Παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν σε αυτό είναι είτε γενετικές μεταλλάξεις σε γονίδια όπως τα *Dlx*, *Tbr1* και *Nkx2.1* είτε περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως το στρες, οι λοιμώξεις, η έκθεση σε επιβλαβείς ουσίες (π.χ. αιθανόλη) (Rice and Barone, 2000; Qiu *et al.*, 2015). Τόσο η διερεύνηση όσο και η κατανόηση των μηχανισμών αυτών είναι εξέχουσας σημασίας, όπως έχει προαναφερθεί, για τη διάγνωση, την πρόληψη και την πιθανή αντιμετώπιση κάθε παθολογικής κατάστασης σχετικής με τη δυσλειτουργία της αμυγδαλής (Tottenham, 2009; Janak and Tye, 2015).

Κυτταρικοί πληθυσμοί

Η αμυγδαλή απαρτίζεται από διεγερτικούς γλουταμινεργικούς και ανασταλτικούς GABAεργικούς νευρώνες, καθώς και από γλοιακά κύτταρα όπως αστροκύτταρα, ολιγοδενδροκύτταρα και μικρογλοιακά κύτταρα (Sah *et al.*, 2003; de Olmos *et al.*, 2004).

Οι πυρήνες της αμυγδαλής έχουν μεταξύ τους διαφορετική αναλογία διεγερτικών / ανασταλτικών νευρώνων, γεγονός που συμβάλλει στην ειδική λειτουργία τους στην επεξεργασία συναισθημάτων, φόβου και μάθησης. Για παράδειγμα, ο έξω-βασικός πυρήνας περιλαμβάνει τον μεγαλύτερο αριθμό γλουταμινεργικών νευρώνων σε σχέση με τους άλλους πυρήνες, ενώ αντίθετα ο κεντρικός πυρήνας υπερέχει στον αριθμό των GABAεργικών νευρώνων που είναι σημαντικοί στην επεξεργασία συναισθημάτων φόβου και άγχους. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην αμυγδαλή οι GABAεργικοί νευρώνες είναι στην πλειοψηφία τους ενδονευρώνες. Ωστόσο, η κεντρική αμυγδαλή διαθέτει πλήθος GABAεργικών νευρώνων που προβάλλουν στον μεσεγκέφαλο, στο εγκεφαλικό στέλεχος και σε νευροενδοκρινικές περιοχές όπως ο υποθάλαμος, συμβάλλοντας στην επεξεργασία συναισθηματικών, κινητικών και νευροενδοκρινικών απαντήσεων που σχετίζονται με τον φόβο και το στρες (Sah *et al.*, 2003; de Olmos *et al.*, 2004; Maldonado *et al.*, 2020). Οι γλουταμινεργικοί νευρώνες έχουν πυραμιδική ή αστεροειδή μορφολογία και προσομοιάζουν μορφολογικά με τους πυραμιδικούς νευρώνες του φλοιού και του ιπποκάμπου καθώς διαθέτουν δενδριτικές εκτεταμένες διακλαδώσεις με μεγάλο πλήθος ακάνθων (**Εικόνα 4.Α.**). Αντίθετα, οι GABAεργικοί

νευρώνες είναι μικρότεροι σε μέγεθος και στερούνται δενδριτικών ακάνθων (**Εικόνα 4.B.**) (Rainnie *et al.*, 1993; Paré *et al.*, 1995; Sah *et al.*, 2003).



Εικόνα 4: Είδη νευρώνων της αμυγδαλής. **A.** Πυραμιδικός (αριστερά) και αστεροειδής (δεξιά) γλουταμινεργικοί νευρώνες του έξω-βασικού πυρήνα στους οποίους διακρίνονται πλήθος ακάνθων. Σημειώνονται ο άξονας και οι αξονικές διακλαδώσεις με κόκκινο παχύ και διπλό λεπτό βέλος, αντίστοιχα. **B.** Φωτογραφία GABAεργικού ενδονευρώνα ο οποίος στερείται δενδριτικών ακάνθων (φωτογραφίες από αρχείο του εργαστηρίου).

Τα γλοιακά κύτταρα έχουν ως ρόλο τόσο την παροχή φυσικής και χημικής υποστήριξης στους νευρώνες όσο και τη συνεισφορά στη διατήρηση της ομοιόστασης του περιβάλλοντος. Επομένως, αποτελούν κύτταρα εξέχουσας σημασίας για την εγκεφαλική λειτουργία κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εγκεφάλου αλλά και στην πορεία της ενήλικης ζωής. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα αστροκύτταρα και τα ολιγοδενδροκύτταρα που προέρχονται από τα κύτταρα της ακτινωτής γλοίας και τα μικρογλοιακά κύτταρα που προέρχονται από την περιφέρεια.

- › Τα αστροκύτταρα παρουσιάζουν μορφολογικά μεγάλο αριθμό αποφυάδων και ο ρόλος τους είναι να συμμετέχουν στον σχηματισμό του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και να προσαρμόζουν τη χημική σύσταση του εξωκυττάριου περιβάλλοντος με την απομάκρυνση της περίσσειας καλίου και την ανακύκλωση των νευροδιαβιβαστών που απελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της συναπτικής διέγερσης.
- › Τα ολιγοδενδροκύτταρα βρίσκονται περιμετρικά γύρω από τους νευράξονες και δημιουργούν το έλυτρο μυελίνης που μονώνει τους άξονες των νευρώνων του εγκεφάλου και συμβάλλει στην ομαλή μετάδοση ηλεκτρικών σημάτων.

- › Τα μικρογλοιακά κύτταρα αποτελούν ένα είδος εξειδικευμένων μακροφάγων που παρέχουν προστασία στους νευρώνες μέσω της φαγοκύτωσης όταν υπάρχει φλεγμονή στο ΚΝΣ.

Παρόλο που η προέλευσή τους είναι διαφορετική, τα αστροκύτταρα και τα μικρογλοιακά κύτταρα αλληλοεπιδρούν και πολλές φορές συμμετέχουν στους ίδιους αναπτυξιακούς μηχανισμούς όπως είναι η νευρογένεση, η γλοιογένεση, η αγγειογένεση, η ανάπτυξη των αξόνων και η συναπτογένεση. Λόγω των ανωτέρω, σε περίπτωση δυσλειτουργίας αυτών των κυττάρων όταν αναπτύσσεται ο εγκέφαλος μπορεί να προκύψει δυσλειτουργία της ανάπτυξης των νευρώνων και πιθανώς παθολογικές καταστάσεις. Στα γλοιακά κύτταρα ανήκουν και τα επενδυματικά κύτταρα που συναντώνται στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) και τα οποία αποτελούν επένδυση του νωτιαίου μυελού και του κοιλιακού συστήματος του εγκεφάλου λαμβάνοντας μέρος στη δημιουργία και έκκριση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Τέλος, τα κύτταρα Schwann παρέχουν μυελίνωση στους άξονες των νευρώνων του περιφερικού νευρικού συστήματος (ΠΝΣ) (Principles of Neural Science, Sixth Edition, n.d.).

Όσον αφορά τους νευροδιαβιβαστές που απαντώνται στην αμυγδαλή, πλέον του γλουταμικού και του GABA που εκλύονται από νευρώνες της ίδιας της αμυγδαλής, προεξέχουσα θέση κατέχουν η ακετυλοχολίνη (προσαγωγές ίνες από πυρήνες του βασικού πρόσθιου εγκεφάλου όπως ο πυρήνας του διαφράγματος), και οι μονοαμίνες όπως η σεροτονίνη, η ντοπαμίνη και η νοραδρεναλίνη οι οποίες εκλύονται από τις νευρικές απολήξεις των προσαγωγών ινών που προέρχονται από τους πυρήνες της ραφής, το κοιλιακό καλυπτρικό πεδίο και τον υπομέλανα τόπο, αντίστοιχα. Οι νευροδιαβιβαστές αυτοί αλληλοεπιδρούν με τους αντίστοιχους υποδοχείς που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των νευρώνων της αμυγδαλής. Εκτός από τους κύριους νευροδιαβιβαστές, εντοπίζονται στην αμυγδαλή και διάφορα νευροπεπτίδια όπως, μεταξύ άλλων, το νευροπεπτίδιο Υ (neuropeptide Y, NPY), η χολεκυστοκινίνη (cholecystokinin, CCK), εγκεφαλίνες (leu-enkephalin, ENK), σωματοστατίνη (somatostatin, SOM), ουσία P (substance P, SP) και ο παράγοντας έκλυσης κορτικοτροπίνης (corticotropin releasing factor, CRF). Τα νευροπεπτίδια αυτά

συνήθως συνεντοπίζονται στις νευρικές απολήξεις με τους κύριους νευροδιαβιβαστές, ή με άλλα νευροπεπτίδια, ασκώντας νευροτροποποιητική δράση στην έκλυση των νευροδιαβαστών (de Olmos *et al.*, 2004).

Συνοπτικά, η αμυγδαλή διαθέτει συνδυασμό διεγερτικών γλουταμινεργικών νευρώνων και ανασταλτικών GABAεργικών νευρώνων, μαζί με ευρύ δίκτυο γλοιακών κυττάρων και νευροχημικά εξειδικευμένων νευρώνων που σχετίζονται με το στρες, το άγχος και τη συναισθηματική μάθηση (**Πίνακας 3**).

Πίνακας 3: Συνοπτική παρουσίαση των τύπων κυττάρων και των νευροδιαβιβαστών τους στους πυρήνες της αμυγδαλής.

Τύπος κυττάρων	Νευροδιαβιβαστής/ουσία	Πυρήνας
Νευρώνες		
Γλουταμινεργικοί (διεγερτικοί)	Γλουταμινικό	Έξω-βασικός
GABAεργικοί (ανασταλτικοί)	GABA	
Προβλητικοί νευρώνες		Κεντρικός
Ενδονευρώνες		Όλοι οι πυρήνες
Άλλοι νευρώνες/ νευρικές απολήξεις		
Πεπτιδεργικές	NPY, SOM, CCK, ENK, SP, CRF	Όλοι οι πυρήνες
Χολινεργικές	Ach	“
Μονοαμινεργικές	5-HT, NA, DA	“
Γλοιακά κύτταρα		
Αστροκύτταρα		Παντού
Ολιγοδενδροκύτταρα		“
Μικρογλοία		“

Ανατομία

Η αμυγδαλή αποτελεί αμφοτερόπλευρη δομή του εγκεφάλου και εντοπίζεται στη βάση του κροταφικού λοβού, προσθίως του κατώτερου κέρατος της πλάγιας κοιλίας. Δεν είναι μια ενιαία, αλλά μια σύνθετη δομή που αποτελείται από ένα σύνολο 13 πυρήνων διασυνδεδεμένων μεταξύ τους, αλλά και με εκτεταμένες προβολές προς άλλες εγκεφαλικές περιοχές.

Επειδή οι πυρήνες της αμυγδαλής εμπλέκονται στην επεξεργασία συναισθημάτων, ιδιαίτερα του φόβου και του άγχους, η κατανόηση των συνδέσεων τόσο μεταξύ τους όσο και με άλλες περιοχές του εγκεφάλου είναι κρίσιμη για την εξακρίβωση του ρόλου τους στην πρόσληψη και αποθήκευση πληροφοριών συναισθηματικής μνήμης (Shackman and Fox, 2016; Bala Ganesh *et al.*, 2024; AbuHasan *et al.*, 2025).

Κύριοι πυρήνες της αμυγδαλής

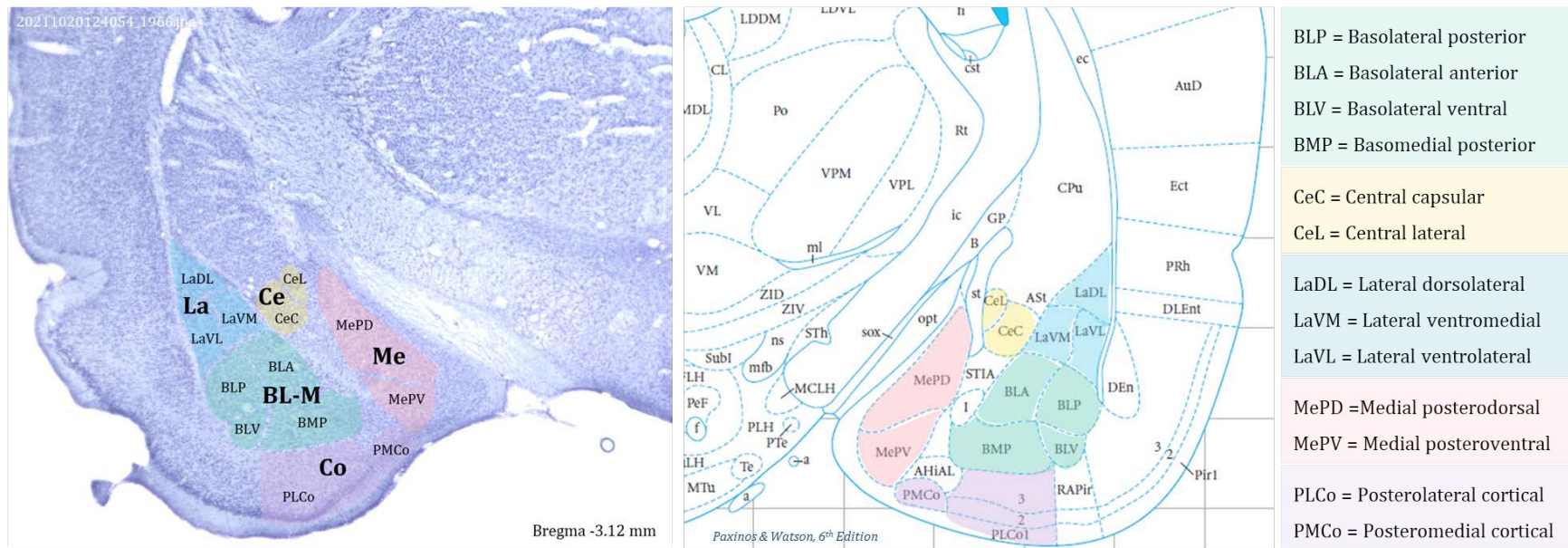
Οι κύριοι πυρήνες της αμυγδαλής είναι:

- i. Ο έξω πυρήνας (Lateral Nucleus, La) ο οποίος διακρίνεται στους υποπυρήνες έξω-ραχιαίο-έξω (Lateral dorsolateral, LaDL), έξω-ραχιαίο-έσω (Lateral dorsomedial, LaDM) και έξω-κοιλιακός-έσω (Lateral ventromedial, LaVM). Ο έξω πυρήνας, που θεωρείται η κύρια «είσοδος» στην αμυγδαλή, δέχεται πληροφορίες κυρίως από τον θάλαμο και τον αισθητηριακό φλοιό (οπτικός, ακουστικός, σωματισθητικός), αξιολογεί τη συναισθηματική σημασία των ερεθισμάτων και στέλνει σήματα κυρίως προς τον βασικό και τον κεντρικό πυρήνα, ενώ παίζει σημαντικό ρόλο στη μάθηση φόβου και τη συναισθηματική μνήμη (Bala Ganesh *et al.*, 2024).
- ii. Ο βασικός πυρήνας με τις υποδιαίρεσεις του σε βασικό-έξω και βασικό-έσω πυρήνα (Basolateral-Basomedial, BL-M) διακρίνεται στους υποπυρήνες έξω-βασικός πρόσθιος (Basolateral anterior, BLA), έξω-βασικός οπίσθιος (Basolateral posterior, BLP), έξω-βασικός κοιλιακός (Basolateral ventral, BLV) και έσω-βασικός οπίσθιος (Basomedial posterior, BMP). Ο βασικός πυρήνας επεξεργάζεται τα στοιχεία που λαμβάνει κυρίως από τον έξω πυρήνα, τον προμετωπιαίο φλοιό και τον ιππόκαμπο, συνδυάζει τις αισθητηριακές και τις γνωστικές πληροφορίες κι έπειτα προωθεί σχετικές εντολές κυρίως προς τον κεντρικό πυρήνα συμβάλλοντας στη συναισθηματική μάθηση (φόβος-ανταμοιβή) (Sah *et al.*, 2003).
- iii. Ο κεντρικός πυρήνας (Central Nucleus, Ce) ο οποίος διακρίνεται στους υποπυρήνες έξω-κεντρικός (Central lateral, CeL) και καψικός-κεντρικός (Central capsular, CeC). Ο κεντρικός πυρήνας, που θεωρείται η κύρια «έξοδος» της αμυγδαλής, δέχεται πληροφορίες κυρίως από τον έξω και το βασικό πυρήνα, ελέγχει αυτόνομες αντιδράσεις όπως είναι ο καρδιακός ρυθμός και η αναπνοή, συμμετέχει στην έκφραση φόβου, άγχους, στην άμυνα, αλλά και στην έκκριση ορμονών μέσω των

προβολών του προς τον υποθάλαμο και το εγκεφαλικό στέλεχος (Davis and Whalen, 2001).

- iv. Ο έσω πυρήνας (Medial nucleus, Me) ο οποίος διακρίνεται στους υποπυρήνες έσω οπισθιο-ραχιαίος (Medial postero-dorsal, MePD) και έσω οπίσθιο-κοιλιακός (Medial postero-ventral, MePV). Ο έσω πυρήνας λαμβάνει σήματα κυρίως από τον οσφρητικό βολβό (ιδίως φερορμόνες) και ρυθμίζει, κυρίως μέσω του υποθαλάμου, ενστικτώδεις, σεξουαλικές και κοινωνικές συμπεριφορές (Yao *et al.*, n.d.).
- v. Ο φλοιώδης πυρήνας (Cortical nucleus, Co) ο οποίος διακρίνεται στους υποπυρήνες οπισθιο-έσω φλοιώδης (Cortical postero-medial, PMCo) και οπίσθιο-έξω φλοιώδης (Cortical postero-lateral, PLCo). Ο φλοιώδης πυρήνας επίσης δέχεται σήματα κυρίως από τον οσφρητικό βολβό και σχετίζεται με την αντίληψη και τη συναισθηματική αξιολόγηση των οσμών και σε συνεργασία κυρίως με τον έσω πυρήνα και τον υποθάλαμο συμμετέχει σε ενστικτώδεις και κοινωνικές συμπεριφορές (Root *et al.*, 2014).

Στους επιπολής πυρήνες εντάσσονται οι: έσω και φλοιώδης πυρήνας, στους εν τω βάθει πυρήνες εντάσσονται οι: έξω και βασικός πυρήνας ενώ ο κεντρικός πυρήνας ανήκει σε ξεχωριστή κατηγορία (**Εικόνα 5**). Πρώιμες μελέτες κατηγοριοποιούσαν την αμυγδαλή σε τρεις βασικούς πυρήνες: εξω-βασικό (basolateral), εσω-κεντρικό (centromedial) και φλοιώδη (cortical) με τους επιμέρους υποπυρήνες τους (Sah *et al.*, 2003).



Εικόνα 5: Επισκόπηση των επιμέρους πυρήνων του αμυγδαλοειδούς σώματος εγκεφάλου αρουραίου (Bregma -3.12 mm σύμφωνα με τις συντεταγμένες των Paxinos and Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2006). Διακρίνονται τα συμπλέγματα των πυρήνων: βασικός (Basolateral - Basomedial, BL-M, πράσινο), κεντρικός (Central, Ce, κίτρινο), έξω (Lateral, La, γαλάζιο), έσω (Medial, Me, ροζ) και φλοιώδης (Cortical, Co, μωβ).

Προσαγωγές και απαγωγές ίνες

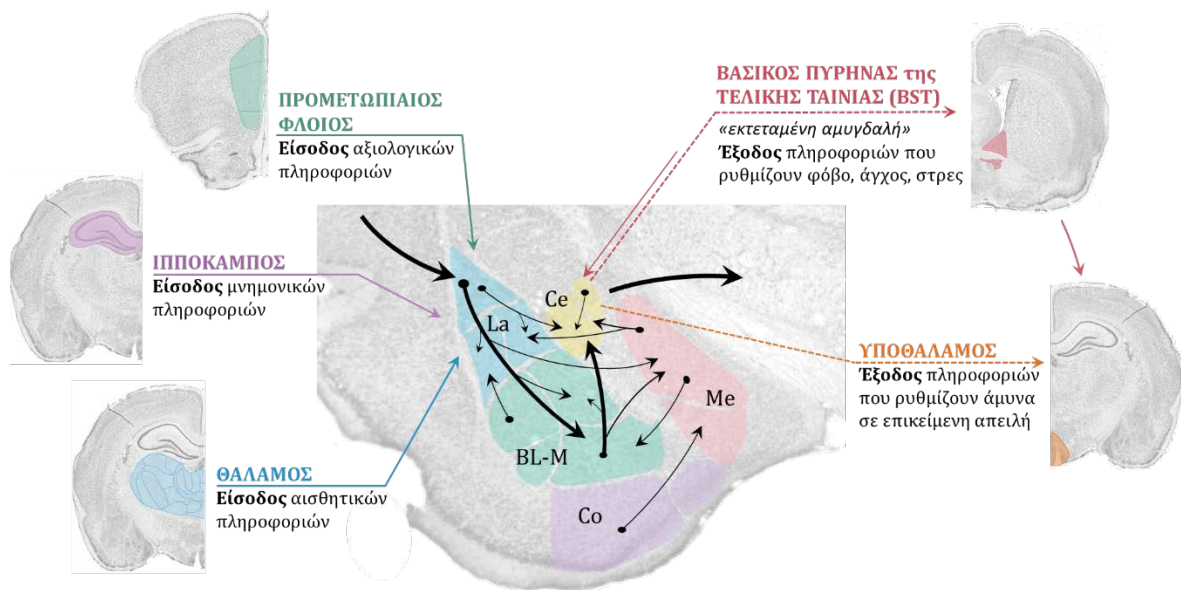
i. Εσωτερικές διασυνδέσεις της αμυγδαλής

Στην **Εικόνα 6** παρουσιάζεται απλοποιημένη σχηματική αναπαράσταση των εσωτερικών διασυνδέσεων των κύριων πυρήνων της αμυγδαλής καθώς και των σημαντικότερων εισερχόμενων και εξερχόμενων νευρικών οδών της στον επίμυ. Όπως φαίνεται και στο σχήμα, ο έξω πυρήνας αποτελεί την κύρια πύλη εισόδου πληροφοριών της αμυγδαλής. Στον πυρήνα αυτόν εισέρχονται ίνες από τον προμετωπιαίο φλοιό (πράσινο), τον ιππόκαμπο (μωβ) και τον θάλαμο (γαλάζιο) οι οποίες σχετίζονται με την αξιολόγηση, την μνήμη και την μεταφορά αισθητηριακών πληροφοριών, αντίστοιχα. Στην συνέχεια, οι πληροφορίες αυτές μεταφέρονται, μέσω είτε μονο- είτε πολυσυναπτικών συνδέσεων, στον κεντρικό πυρήνα ο οποίος αποτελεί την κύρια πύλη εξόδου της αμυγδαλής κυρίως προς το βασικό πυρήνα της τελικής ταινίας (Bed nucleus of stria terminalis, BST) για πληροφορίες που ρυθμίζουν φόβο, άγχος και στρες, αλλά και προς τον υποθάλαμο για πληροφορίες που ρυθμίζουν μηχανισμούς άμυνας σε επικείμενη απειλή. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο βασικός πυρήνας της τελικής ταινίας θεωρείται ως προέκταση της αμυγδαλής και συχνά αναφέρεται μαζί με τον κεντρικό πυρήνα ως «εκτεταμένη αμυγδαλή» (Pitkänen *et al.*, 1997; LeDoux, 2000; Sah *et al.*, 2003; de Olmos *et al.*, 2004; Mohammadi *et al.*, 2013; Benarroch, 2015; Olucha-Bordonau *et al.*, 2015; Shackman and Fox, 2016; Hur *et al.*, 2019).

Η αμυγδαλή διαθέτει εκτεταμένες διασυνδέσεις μεταξύ των πυρήνων της και ενίοτε μεταξύ των επιμέρους υποπυρήνων της. Αυτές συνοψίζονται παρακάτω:

- i. Έξω πυρήνας: διαθέτει αμοιβαίες συνδέσεις με τον βασικό και τον έσω πυρήνα, προβάλλει στον κεντρικό πυρήνα και όπως προαναφέρθηκε αποτελεί την κύρια πύλη εισόδου στην αμυγδαλή.
- ii. Βασικός πυρήνας: διαθέτει αμοιβαίες συνδέσεις με τον έξω και τον έσω πυρήνα και προβάλλει στον κεντρικό πυρήνα.
- iii. Κεντρικός πυρήνας: αποτελεί το βασικό σημείο απαγωγών προβολών της αμυγδαλής και δέχεται ίνες από τον έξω, τον έσω και τον βασικό πυρήνα.

- iv. Έσω πυρήνας: διαθέτει αμοιβαίες συνδέσεις με τον βασικό και τον έξω πυρήνα και προβάλλει στον κεντρικό πυρήνα.
- v. Φλοιώδης πυρήνας: προβάλλει κυρίως στον έσω πυρήνα της αμυγδαλής.



Εικόνα 6: Απλοποιημένη σχηματική αναπαράσταση των εσωτερικών συνδέσεων των κύριων πυρήνων και υποπυρήνων της αμυγδαλής συμπεριλαμβανομένων των κύριων εισερχόμενων και εξερχόμενων οδών στον επίμυ. Με έντονα βέλη σημαίνονται οι κύριες οδοί εισόδου και εξόδου καθώς και της ροής πληροφοριών στους πυρήνες της αμυγδαλής.

ii. Εξωτερικές διασυνδέσεις της αμυγδαλής

Η αμυγδαλή συνδέεται με άλλες δομές του εγκεφάλου μέσω ενός εκτεταμένου νευρωνικού δικτύου το οποίο στέλνει πληροφορίες στον προμετωπιαίο φλοιό, τον υποθάλαμο και τον ιππόκαμπο για τη λήψη αποφάσεων και την μνήμη, ενώ δέχεται αισθητηριακές και αξιολογικές πληροφορίες από τον προμετωπιαίο φλοιό και τον θάλαμο οι οποίες συμβάλλουν στην επεξεργασία του συναισθήματος. Διακρίνονται δύο σημαντικές απαγωγές οδοί: i) η τελική ταινία (stria terminalis, ST) η οποία αποτελεί δεσμίδα ινών ακολουθεί κατά μήκος την πλάγια κοιλία και συνδέει την αμυγδαλή με τον υποθάλαμο και τον πυρήνα του διαφράγματος και ii) η κοιλιακή αμυγδαλοφυγική οδός (ventral amygdalofugal pathway) η οποία αποτελεί δεσμίδα

ινών που διατρέχει κοιλιακά τον βασικό πρόσθιο εγκέφαλο και συνδέει την αμυγδαλή με τον υποθάλαμο, τον θάλαμο, τον επικλινή πυρήνα και το κοιλιακό ραβδωτό σώμα καθώς και περιοχές του εγκεφαλικού στελέχους όπως την κεντρική φαιά ουσία και τον δικτυωτό σχηματισμό (Sah *et al.*, 2003; de Olmos *et al.*, 2004). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι διασυνδέσεις μεταξύ της αμυγδαλής και των άλλων περιοχών του εγκεφάλου είναι ως επί το πλείστον αμφίδρομες, ωστόσο για λόγους απλούστευσης κατηγοριοποιούνται σε απαγωγές, προσαγωγές και αμφίδρομες όπως αναφέρεται παρακάτω (**Εικόνα 7**):

Απαγωγές ίνες

- › υποθάλαμος (θερμοκρασία, πείνα, δίψα, έλεγχος αυτόνομων λειτουργιών)
- › επικλινής πυρήνας (σύνδεση συναισθήματος με κίνητρο και ανταμοιβή)
- › βασικός πυρήνας της τελικής ταινίας (παρατεταμένο άγχος)
- › κεντρική φαιά ουσία (κινητικές αντιδράσεις φόβου: πάγωμα, φυγή άμυνα)
- › δικτυωτός σχηματισμός (ρύθμιση εγρήγορσης και προσοχής)

Προσαγωγές ίνες

- › αισθητηριακός (σωμα αισθητικός, οπτικός, ακουστικός, οσφρητικός) φλοιός (επεξεργασμένα αισθητηριακά ερεθίσματα)
- › θάλαμος (μεταβίβαση αισθητικών & συναισθηματικών πληροφοριών σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου)
- › έλικα του προσαγωγίου (ρύθμιση συναισθημάτων, προσοχή, αυτόνομες λειτουργίες)

Αμφίδρομες ίνες

- › προμετωπιαίος φλοιός (γνωστική εκτίμηση, ρύθμιση συναισθημάτων)
- › βασικά γάγγλια (πληροφορίες για κινητική και αυτόνομη λειτουργία)
- › ιππόκαμπος (μνήμη, χωρικός προσανατολισμός)

ΠΡΟΣΑΓΩΓΕΣ ΙΝΕΣ

ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΑΚΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

Επεξεργασμένα αισθητηριακά ερεθίσματα

2. ΣΩΜΑΤΑΙΣΘΗΤΙΚΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

3. ΟΠΤΙΚΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

4. ΑΚΟΥΣΤΙΚΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

5. ΟΣΦΡΗΤΙΚΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

ΘΑΛΑΜΟΣ

Μεταβίβαση αισθητικών & συναισθηματικών πληροφοριών σε άλλες περιοχές του εγκεφάλου

ΕΛΙΚΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΑΓΩΓΙΟΥ

Ρύθμιση συναισθημάτων, προσοχή, αυτόνομες λειτουργίες

ΑΜΦΙΔΡΟΜΕΣ ΙΝΕΣ

1. ΠΡΟΜΕΤΩΠΙΑΙΟΣ ΦΛΟΙΟΣ

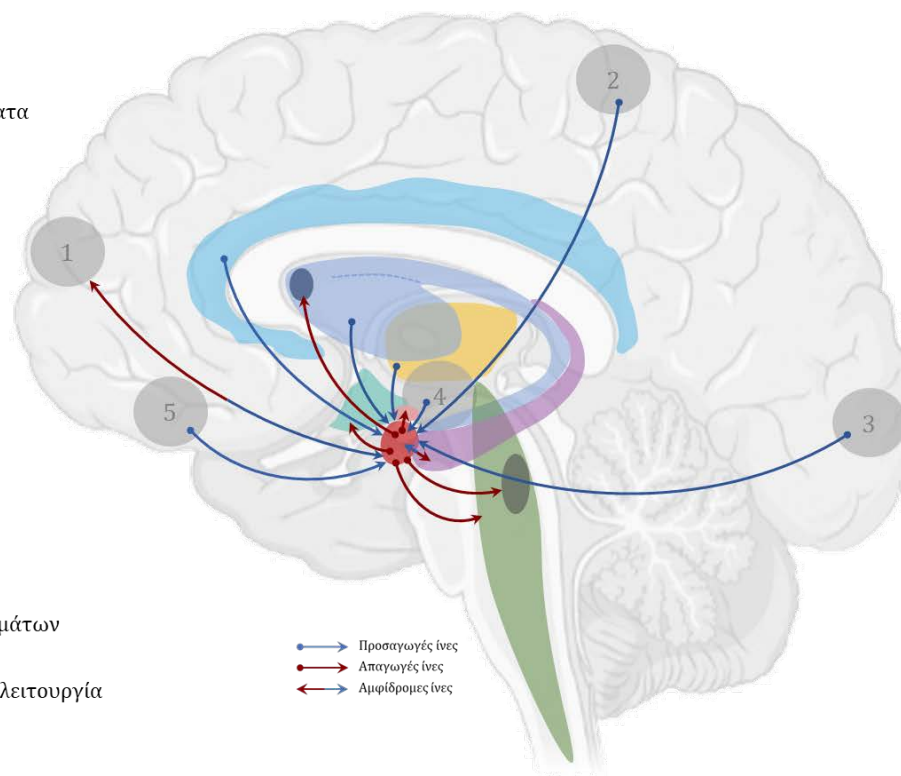
Γνωστική εκτίμηση, ρύθμιση συναισθημάτων

ΒΑΣΙΚΑ ΓΑΓΓΛΙΑ

Πληροφορίες για κινητική & αυτόνομη λειτουργία

ΙΠΠΟΚΑΜΠΟΣ

Μνήμη, χωρικός προσανατολισμός



→ Προσαγωγές ίνες
→ Απαγωγές ίνες
→ Αμφιδρόμες ίνες

ΑΠΑΓΩΓΕΣ ΙΝΕΣ

ΕΠΙΚΛΙΝΗΣ ΠΥΡΗΝΑΣ

(Nucleus accumbens)

Σύνδεση συναισθήματος με κίνητρο και ανταμοιβή

ΥΠΟΘΑΛΑΜΟΣ

Θερμοκρασία, πείνα, δίψα, έλεγχος αυτόνομων λειτουργιών

ΒΑΣΙΚΟΣ ΠΥΡΗΝΑΣ ΤΗΣ

ΤΕΛΙΚΗΣ ΤΑΙΝΙΑΣ (BST)

Παρατεταμένο άγχος

ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΦΑΛΙΑ ΟΥΣΙΑ (PAG)

Κινητικές αντιδράσεις φόβου (πάγωμα, φυγή, άμυνα)

ΔΙΚΤΥΩΤΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ

Ρύθμιση εγρήγορσης και προσοχής

ΑΜΥΓΔΑΛΗ

Μνήμη, λήψη αποφάσεων, συναισθημα

Εικόνα 7: Σχηματική απεικόνιση των κύριων δομών με τις οποίες συνδέεται η αμυγδαλή (βλ. κείμενο).

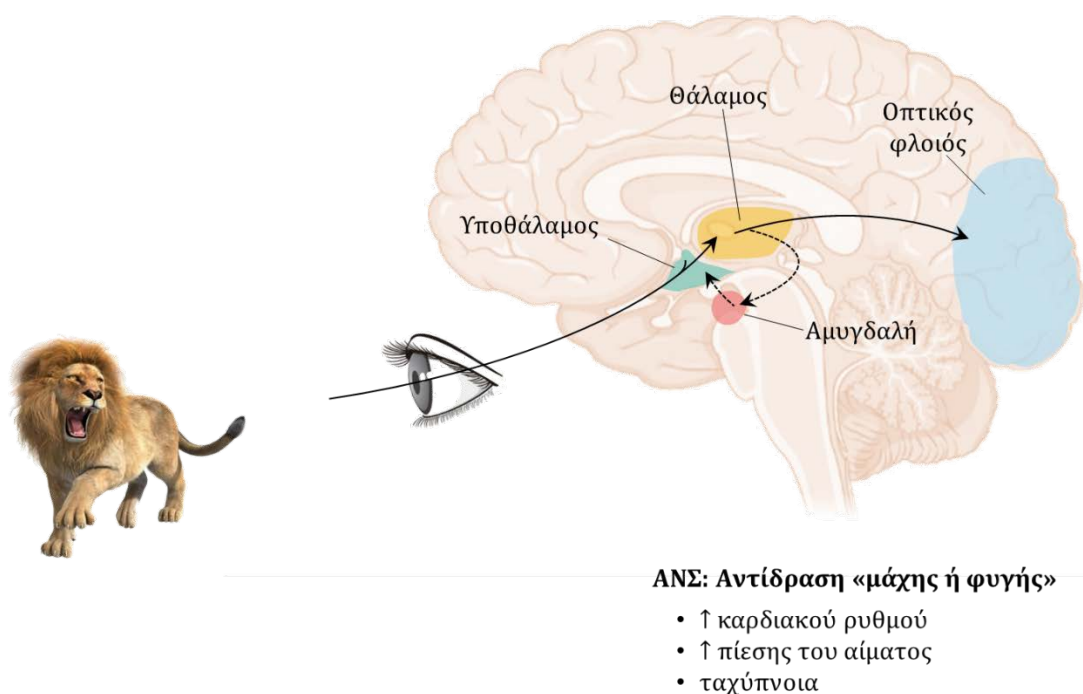
Λειτουργικός ρόλος

Η αμυγδαλή αποτελεί το κέντρο ολοκλήρωσης των συναισθημάτων, της συναισθηματικής συμπεριφοράς και του κινήτρου. Το κύριο συναίσθημα που ελέγχει η αμυγδαλή είναι ο φόβος, ένα συναίσθημα απαραίτητο για την επιβίωση καθώς είναι ένα από τα πρώτα τμήματα του εγκεφάλου που αντιδρά στον κίνδυνο. Η ανατομική της θέση κοντά σε αισθητηριακές δομές σχετικές κυρίως με την όσφρηση εξηγεί το λόγο για τον οποίο οι μυρωδιές συνδέονται έντονα με τα συναισθήματα και τις αναμνήσεις. Επίσης, η αμυγδαλή συνδέεται με εγκεφαλικές περιοχές οι οποίες επεξεργάζονται ερεθίσματα σχετιζόμενα με την όραση και την ακοή και είναι υπεύθυνη για την μνημονική ταξινόμηση των ερεθισμάτων αυτών με γνώμονα την επικινδυνότητά τους. Έτσι, η αμυγδαλή θα προκαλέσει φόβο ή αντίστοιχα συναισθήματα σε μελλοντική έκθεση σε παρόμοια ερεθίσματα όσφρησης, ακοής ή όρασης. Ωστόσο, πλέον της εμπλοκής της σε συναισθήματα φόβου και άγχους, ο ρόλος της αμυγδαλής επεκτείνεται και στα ακόλουθα:

- › επιθετικότητα
- › μάθηση μέσω ανταμοιβής και τιμωρίας
- › συναισθήματα συνδεδεμένα με αναμνήσεις
- › ενστικτώδης συμπεριφορά ως απάντηση σε αλλαγές του περιβάλλοντος μέσω της άδηλης μνήμης (implicit memory, αυτόματη τέλεση πράξεων χωρίς συνειδητή επεξεργασία)
- › κοινωνική κατανόηση και επικοινωνία (ερμηνεία των προθέσεων βάσει της συμπεριφοράς ή του τρόπου ομιλίας)
- › συναισθήματα σχετιζόμενα με την γονεϊκότητα και την φροντίδα
- › συμπεριφορά σχετιζόμενη με τον εθισμό
- › ρύθμιση αυτόνομων και ενδοκρινικών λειτουργιών και ενεργοποίηση της συμπεριφοράς «μάχης ή φυγής» μέσω απαγωγών συνδέσεων του κεντρικού πυρήνα της αμυγδαλής με φλοιώδεις και υποφλοιώδεις δομές του εγκεφάλου

Επομένως, η αμυγδαλή αποτελεί κεντρική υποφλοιώδη εγκεφαλική δομή σχετιζόμενη με το συναίσθημα, η οποία δέχεται και αξιολογεί ανά πάσα στιγμή ποικίλες αισθητηριακές πληροφορίες προερχόμενες από το εξωτερικό περιβάλλον

αποδίδοντας σε αυτές κατάλληλες διαστάσεις, όπως ένταση, αλλά και θετικό ή αρνητικό πρόσημο. Επιπλέον, η αμυγδαλή συμμετέχει στη ρύθμιση αυτόνομων και ενδοκρινών λειτουργιών και στη λήψη αποφάσεων για την τέλεση ενστικτωδών συμπεριφορών ως απάντηση σε αλλαγές του περιβάλλοντος. Αυτό το επιτυγχάνει επιστρατεύοντας μηχανισμούς άδηλης μνήμης, καθώς αποτελεί σημαντική εγκεφαλική δομή βραχύχρονης και μακρόχρονης συναπτικής πλαστικότητας. Επίσης, συμμετέχει στην ενεργοποίηση της αντίδρασης «μάχης ή φυγής» μέσω απαγωγών ινών κυρίως του κεντρικού πυρήνα προς φλοιώδεις και υποφλοιώδεις δομές και κυρίως μέσω του υποθαλάμου (**Εικόνα 8**). Με αυτόν τον τρόπο η αμυγδαλή συμμετέχει σε όλες τις διαδικασίες που είναι απαραίτητες για την διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού και της επιβιώσής του στις συνεχείς προκλήσεις ενός μεταβαλλόμενου περιβάλλοντος (Sah *et al.*, 2003; Šimić *et al.*, 2021b).

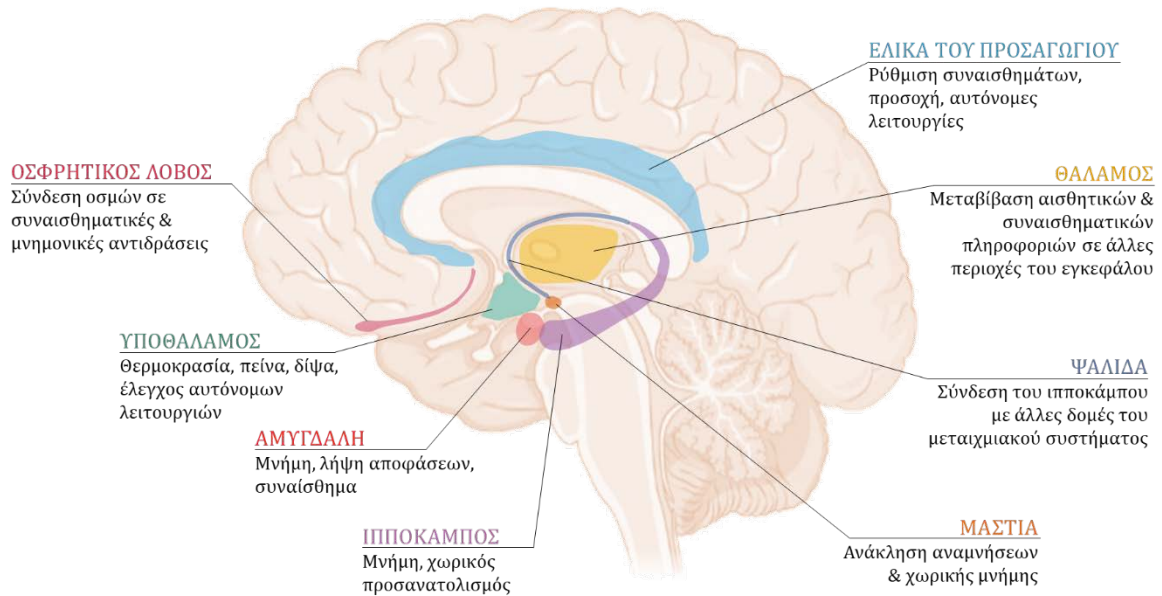


Εικόνα 8: Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου της αμυγδαλής στην αντίδραση «μάχης ή φυγής» ως απάντηση σε επικίνδυνο περιβαλλοντικό ερέθισμα όπως είναι η θέα ενός θηρίου. Η αμυγδαλή δέχεται την οπτική πληροφορία από τον θάλαμο και με τη σειρά της μέσω των συνδέσεών της με τον υποθάλαμο προκαλεί διέγερση του αυτόνομου νευρικού συστήματος (ΑΝΣ, πχ αύξηση του καρδιακού ρυθμού και της πίεσης του αίματος) θέτοντας σε εφαρμογή την απάντηση φυγής μακριά από τον επερχόμενο κίνδυνο.

Η αμυγδαλή ως μέρος του μεταιχμιακού συστήματος

Η αμυγδαλή αποτελεί μέρος ενός ευρύτερου δικτύου του εγκεφάλου που ονομάζεται μεταιχμιακό σύστημα (limbic system) και αναφέρεται σε ένα σύνολο ανατομικών δομών που βρίσκονται μεταξύ του φλοιού και του υποθαλάμου. Από ανατομικής απόψεως, στο μεταιχμιακό σύστημα περιλαμβάνονται οι παρακάτω δομές (**Εικόνα 9**) (McLachlan, 2009; Kamali *et al.*, 2023):

- › αμυγδαλή (amygdala, φόβος, επιθετικότητα, συναισθηματική μνήμη)
- › ιππόκαμπος (hippocampus, μνήμη, μάθηση, χωρικός προσανατολισμός)
- › θάλαμος (thalamus, κέντρο ανιόντων οδών, πλην της οσφρητικής)
- › υποθάλαμος (hypothalamus, έλεγχος του αυτόνομου, ρύθμιση ενδοκρινών)
- › έλικα του προσαγωγίου (cingulate gyrus, προσοχή, ρύθμιση συναισθημάτων)
- › μαστία (mammillary bodies, επεξεργασία μνημονικών πληροφοριών)
- › ψαλίδα (fornix, σύνδεση ιπποκάμπου με άλλες εγκεφαλικές περιοχές)
- › οσφρητικός λοβός (olfactory bulb, σύνδεση οσμών με μνήμη)



Εικόνα 9: Σχηματική απεικόνιση των κύριων δομών του μεταιχμιακού συστήματος.

Το μεταιχμιακό σύστημα σχετίζεται κυρίως με τον έλεγχο των συναισθημάτων, της συμπεριφοράς και την λήψη αποφάσεων, ενώ διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μνήμη και τη μάθηση. Μέσα από πληθώρα νευρικών συνδέσεων λειτουργεί ως κόμβος συναισθηματικών πληροφοριών συνδέοντας τη σύνθετη συμπεριφορά με πιο πρωτόγονες και ενστικτώδεις συμπεριφορές συνυπολογίζοντας την εσωτερική ομοιόσταση. Μέσω του υποθαλάμου και των ορμονών που εκκρίνονται από αυτόν, το μεταιχμιακό σύστημα επηρεάζει με πολλούς τρόπους τη συμπεριφορά του ατόμου, όπως για παράδειγμα στις αντιδράσεις φόβου.

Ιστορικά, υπήρξε ακαδημαϊκή διαμάχη σχετικά με τη χρήση του όρου «μεταιχμιακό σύστημα» όσον αφορά τόσο τις δομές που απαρτίζουν το σύστημα αυτό όσο και τις λειτουργίες στις οποίες εμπλέκεται. Επιστήμονες όπως ο Joseph E. LeDoux και ο Edmund Rolls υποστήριζαν ότι ο όρος αυτός πρέπει να εγκαταλειφθεί καθώς θεωρείται πλέον ξεπερασμένος. Αρχικά, το μεταιχμιακό σύστημα θεωρούνταν το κέντρο των συναισθημάτων στον εγκέφαλο, σε αντιπαράθεση με το νεοφλοιό που θεωρούνταν υπεύθυνος για τις γνωστικές λειτουργίες. Ωστόσο, οι γνωστικές λειτουργίες βασίζονται στην απόκτηση και διατήρηση των αναμνήσεων, στις οποίες εμπλέκεται ο ιππόκαμπος, μια βασική μεταιχμιακή δομή που αλληλεπιδρά με άλλες δομές του εγκεφάλου και βλάβη του προκαλεί σοβαρά γνωστικά (μνημονικά) ελλείμματα (LeDoux, 2000; Rolls, 2015). Σημαντική πρόοδος στις νευροεπιστήμες έχουν οδηγήσει επανεξιλημμένα σε αναθεώρηση των «ορίων» του μεταιχμιακού συστήματος έτσι ώστε να περιλαμβάνονται δομές οι οποίες σχετίζονται ευρύτερα με την επεξεργασία των συναισθημάτων. Πράγματι, ενώ οι δομές του μεταιχμιακού συστήματος σχετίζονται στενότερα με τα πρωτογενή ή ενστικτώδη συναισθήματα, το μεταιχμιακό σύστημα αυτό καθαυτό μπορεί να θεωρείται ως μέρος ενός ευρύτερου συστήματος επεξεργασίας και απαρτίωσης των συναισθημάτων.

Στο ευρύτερο αυτό σύστημα του μεταιχμιακού συστήματος περιλαμβάνονται, συμπληρωματικά με τις κύριες, οι παρακάτω δομές:

- › παραϊπποκάμπια έλικα (parahippocampal gyrus, κωδικοποίηση και ανάκληση μνήμης)

- › πυρήνας του διαφράγματος (septal nucleus, μνήμη, μάθηση, κοινωνική συμπεριφορά, κίνητρο)
- › επικλινής πυρήνας (nucleus accumbens, κέντρο ανταμοιβής & κινήτρου, εθισμός)
- › προμετωπιαίος φλοιός (prefrontal cortex, ανώτερη ρύθμιση συναισθημάτων & λήψης αποφάσεων)
- › απιοειδής φλοιός (piriform cortex, μέρος του οσφρητικού λοβού που συνδέει οσμές με μνήμη)
- › κογχικός φλοιός (orbitofrontal cortex, λήψη αποφάσεων, κοινωνική συμπεριφορά).

Παθολογικές καταστάσεις σχετιζόμενες με την αμυγδαλή

Όπως αναφέρεται παραπάνω, η αμυγδαλή ως μέρος του μεταιχμιακού συστήματος του εγκεφάλου, έχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση σημαντικών λειτουργιών όπως στα συναισθήματα φόβου, άγχους και επιθετικότητας, στη μνήμη, αλλά και στην αντίληψη κινδύνου και ανταμοιβής. Συγκεκριμένα, το κύκλωμα φλοιού-μεταιχμιακού συστήματος, συμπεριλαμβανομένων της αμυγδαλής (και ειδικότερα του έξω-βασικού πυρήνα), του προμετωπιαίου φλοιού και του κοιλιακού ιπποκάμπου, είναι απολύτως συνυφασμένο με την ψυχοπαθολογία της πρώιμης ηλικίας και με την εμφάνιση συμπτωμάτων διαταραχών του συναισθήματος όπως κατάθλιψη και άγχος (Shin and Liberzon, 2010; Guadagno *et al.*, 2021). Ειδικότερα, η διαταραχή της δομής ή της λειτουργίας της αμυγδαλής μπορεί να οδηγήσει σε πληθώρα παθολογικών καταστάσεων, όπως:

Ψυχιατρικές διαταραχές

- › Αγχώδεις διαταραχές: περιλαμβάνουν τη γενικευμένη αγχώδη διαταραχή, τη διαταραχή πανικού, τις φοβίες και το κοινωνικό άγχος, και οφείλονται σε υπερδραστικότητα της αμυγδαλής, η οποία οδηγεί σε αυξημένα αισθήματα άγχους και φόβου (Babaev *et al.*, 2018; Jung *et al.*, 2018; Kolesar *et al.*, 2019; Al Bazzal *et al.*, 2025).

- › Διαταραχή μετατραυματικού στρες (PTSD): περιλαμβάνει την επαναβίωση τραύματος, και οφείλεται σε υπερδραστηριότητα και διαταραχή της λειτουργίας της αμυγδαλής, η οποία οδηγεί σε υπερευαισθησία σε ερεθίσματα τα οποία θυμίζουν το τραύμα (Harnett *et al.*, 2020; Davis and Hamner, 2024).
- › Κατάθλιψη: περιλαμβάνει τη μείζονα καταθλιπτική διαταραχή (κλινική κατάθλιψη), και οφείλεται σε αλλαγές τόσο στον όγκο όσο και στη συνδεσιμότητα της αμυγδαλής με περιοχές του μετωπιαίου φλοιού, έχοντας σαν αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία της ρύθμισης συναισθημάτων (Chaudhury *et al.*, 2015; Du *et al.*, 2024).
- › Διπολική διαταραχή: περιλαμβάνει μανιακά και καταθλιπτικά επεισόδια και οφείλεται σε δυσλειτουργία και αστάθεια της δραστηριότητας της αμυγδαλής, έχοντας σαν αποτέλεσμα τη διαταραχή της ρύθμισης συναισθημάτων (Ho *et al.*, 2019; Al Bazzal *et al.*, 2025).
- › Σχιζοφρένεια: περιλαμβάνει ψευδαισθήσεις και παραληρητικές ιδέες και οφείλεται τόσο σε δομικές όσο και σε λειτουργικές αλλοιώσεις της αμυγδαλής, οι οποίες οδηγούν σε διατάραξη της κοινωνικής αντίληψης και της επεξεργασίας συναισθημάτων (Rich *et al.*, 2016; Ho *et al.*, 2019; Al Bazzal *et al.*, 2025).
- › Διαταραχές προσωπικότητας: περιλαμβάνουν την οριακή και την αντικοινωνική διαταραχή και οφείλονται σε υπερδραστηριότητα της αμυγδαλής, η οποία έχει ως αποτέλεσμα έντονα συναισθηματικά ξεσπάσματα ή απουσία ενσυναίσθησης (Leichsenring *et al.*, 2024).
- › Διαταραχή Αυτιστικού Φάσματος (ΔΑΦ) - Αυτισμός: περιλαμβάνει δυσκολίες κοινωνικής αλληλεπίδρασης και οφείλεται σε δομικές αλλά και λειτουργικές αλλοιώσεις της αμυγδαλής, οι οποίες οδηγούν στη δυσχέρεια της κοινωνικής και της συναισθηματικής επεξεργασίας (Munson *et al.*, 2006).

Νευροεκφυλιστικά και νευρολογικά νοσήματα

- › Νόσος Alzheimer: περιλαμβάνει την άνοια και οφείλεται στην εναπόθεση β-αμυλοειδούς και στον νευροεκφυλισμό την αμυγδαλής που οδηγεί σε ατροφία της δομής (Sengoku, 2020; Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 2023; Padulo *et al.*, 2023; Stouffer *et al.*, 2024).

- › Νόσος Parkinson: περιλαμβάνει κινητικά και ψυχιατρικά συμπτώματα και οφείλεται σε αλλοιώσεις της αμυγδαλής που σχετίζονται με τη διαταραχή της διάθεσης και του άγχους (Banwinkler *et al.*, 2022; Horsager and Borghammer, 2024).
- › Επιληψία κροταφικού λοβού: πρόκειται για επιληπτικές κρίσεις με συναισθηματικές εκδηλώσεις (αύρα, αίσθημα déjà vu, έντονος φόβος) (Feichtinger *et al.*, 2001; Chauhan *et al.*, 2022).

Άλλες καταστάσεις

- › Όγκοι ή βλάβες της αμυγδαλής: περιλαμβάνουν το τραύμα ή την παρουσία νεοπλασματος και έχουν ως αποτέλεσμα είτε την απώλεια συναισθήματος-φόβου, είτε την υπερδραστηριότητα που οδηγεί σε επιθετικότητα (Das and Siddiqui, 2025).
- › Σύνδρομο Klüver–Bucy: περιλαμβάνει αμφοτερόπλευρη βλάβη της αμυγδαλής ή/και των κροταφικών λοβών που έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια φόβου, την υπερσεξουαλικότητα, την υπερφαγία ή τη συναισθηματική αδιαφορία (Das and Siddiqui, 2025; Janku *et al.*, n.d.).

Αμυγδαλή και προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη (Prenatal Alcohol Exposure, PAE)

Η έκταση των εγκεφαλικών βλαβών που μπορεί να προκληθούν από την PAE εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες όπως η χρονική περίοδος προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη και η συγκέντρωσή της (Lebel *et al.*, 2011). Όπως συμβαίνει και με τον φλοιό του εγκεφάλου, έτσι και οι εν τω βάθει δομές του είναι ευάλωτες στην PAE όπως είναι το μεσολόβιο (Autti-Rämö *et al.*, 2002) ο ιππόκαμπος (Dodge *et al.*, 2020), ο κερκοφόρος πυρήνας (Astley *et al.*, 2009) και τα βασικά γάγγλια (Mattson *et al.*, 1996), στις οποίες παρατηρούνται δομικές και λειτουργικές αλλαγές. Πληθώρα μελετών έχουν δείξει ότι έκθεση στο αλκοόλ κατά τη διάρκεια της κύησης στον αναπτυσσόμενο εγκέφαλο του ανθρώπου μπορεί να προκαλέσει δομικές και λειτουργικές αλλοιώσεις στην αμυγδαλή με αποτέλεσμα την αυξημένη ευαλωτότητα σε συναισθήματα και άγχος, καθώς και δυσκολία στην κοινωνική προσαρμογή (Nardelli *et al.*, 2011a).

Παρακάτω περιγράφονται οι αλλαγές που επέρχονται στην αμυγδαλή ως αποτέλεσμα της προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη:

Δομικές αλλαγές

Ευρήματα από απεικονιστικές μελέτες στον άνθρωπο έδειξαν ότι παιδιά με FASD ή PAE έχουν σημαντικά μικρότερους εγκεφάλους (Autti-Rämö, 2002), μειωμένο όγκο του ιπποκάμπου (Dodge *et al.*, 2020), του φλοιού, των βασικών γαγγλίων του μεσολοβίου και της παρεγκεφαλίδας, αλλά όχι του αμυγδαλοειδούς πυρήνα (Archibald *et al.*, 2001). Επίσης έχει φανεί πως σε περιπτώσεις προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη, παιδιά και νέοι παρουσιάζουν τροποποιημένα μοτίβα ωρίμανσης της αμυγδαλής και του προμετωπιαίου φλοιού όσον αφορά τόσο τη δομή όσο και τη συνδεσιμότητά τους (Roeske *et al.*, 2025). Διχογνωμία υπάρχει στην υπάρχουσα βιβλιογραφία σχετικά με τις διαφορές στον όγκο της αμυγδαλής σε παιδιά με PAE, με κάποιες μελέτες να δείχνουν διαφορές (Riikonen *et al.*, 2005; Nardelli *et al.*, 2011b), και άλλες να μη βρίσκουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (Riikonen *et al.*, 1999; Archibald *et al.*, 2001; Roussotte *et al.*, 2012). Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως

κάποιες από τις μελέτες αναφέρουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον όγκο της αμυγδαλής μόνο όταν δεν συνυπολογίζεται στην ανάλυση ο συνολικός ενδοκρανιακός όγκος (Riikonen *et al.*, 2005; Nardelli *et al.*, 2011b).

Η προγεννητική έκθεση σε ήπια συγκέντρωση (6% v/v) αιθανόλης, καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης, επιφέρει σημαντικές δομικές αλλαγές των πυραμιδικών νευρώνων του έξω-βασικού πυρήνα της αμυγδαλής, οι οποίες εμμένουν στην ενήλικη ζωή, όπως πιστοποιήθηκε μετά από έλεγχο τους στους 8 και 15 μήνες μετά τη γέννηση (Cullen *et al.*, 2013). Οι αλλαγές αυτές συνίσταντο σε αύξηση του μήκους των κορυφαίων δενδριτών και του πλήθους των δενδριτικών ακάνθων τους, χωρίς αλλαγή στον αριθμό των νευρώνων, αλλαγές οι οποίες είναι ενδεικτικές αυξημένης συναπτικής συνδεσιμότητας, και επομένως συναπτικής δραστηριότητας, μεταξύ των νευρώνων και μπορούν να εξηγήσουν την αυξημένη αγχώδη διαταραχή που παρατηρήθηκε σε αυτά τα πειραματόζωα. Περαιτέρω, οξεία υποδόρια χορήγηση αιθανόλης (2,5 g/kg) κατά την πρώιμη μεταγεννητική περίοδο (postnatal day, PND 7, 15 και 20), κατά την οποία εξακολουθεί η ανάπτυξη της αμυγδαλής, οδηγεί, 24 ώρες αργότερα, σε απόπτωση των νευρώνων της κεντρικής αμυγδαλής. Το εύρημα αυτό οφείλεται σε στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, ενεργοποίηση των πρωτεολυτικών ενζύμων κασπάσης 3 και 9 με τελικό αποτέλεσμα την εκφύλιση και απόπτωση των νευρικών κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στις PND7 και PND15 αλλά όχι στην PND20 υποδηλώνοντας ότι οι βλάβες επέρχονται σε συγκεκριμένο χρονικό παράθυρο έκθεσης στην αιθανόλη (Balaszczuk *et al.*, 2011).

Νευροχημικές διαταραχές

Έχει αναφερθεί ότι μετά από έκθεση στην αιθανόλη επηρεάζονται τα συστήματα νευροδιαβιβαστών (π.χ. GABA, γλουταμικού οξέος) της αμυγδαλής. Μεγαλύτερη συχνότητα γλουταμινεργικών, αλλά όχι GABAεργικών, αυθόρμητων μετασυναπτικών ρευμάτων παρατηρήθηκε στον έξω-βασικό πυρήνα της αμυγδαλής επίμυων 36-50 ημέρες μετά την έκθεσή τους κατά τις ημέρες P3-P5 σε ατμό αιθανόλης σε σχέση με επίμυες μάρτυρες (Baculis *et al.*, 2015). Το εύρημα αυτό συνηγορεί υπέρ της άποψης ότι η έκθεση στην αιθανόλη προκαλεί μακροχρόνια αλλαγή στην ισορροπία διεγερσης-αναστολής του πυρήνα και μάλιστα προς την κατεύθυνση της υπερδραστηριότητας

των πυραμιδικών νευρώνων. Σημειωτέο ότι η μεταβολή των γλουταμινεργικών ρευμάτων παρατηρήθηκε στη συχνότητα αλλά όχι στο πλάτος τους, γεγονός που υποδηλώνει *μεγαλύτερη απελευθέρωση γλουταμικού οξέος* η οποία όμως δεν συνοδεύεται από μεταβολές στον αριθμό ή την αγωγιμότητα των μετασυναπτικών γλουταμινεργικών υποδοχέων. Αντίθετα, στη μελέτη των Zhou και συν. αναφέρεται ότι η προγεννητική έκθεση σε αιθανόλη κατά το διάστημα E6-E20 προκαλεί μακροχρόνια (80-85 ημέρες μετά τη γέννηση) αύξηση της διεγερσιμότητας του έξω-βασικού πυρήνα η οποία οφείλεται σε *μειωμένη GABAεργική διαβίβαση* (Zhou *et al.*, 2010). Το εύρημα αυτό στηρίζεται στην παρατήρηση ότι η χορήγηση μιδαζολάμης, γνωστού αγωνιστή των GABA_A υποδοχέων, αντιστρέφει την αυξημένη διεγερσιμότητα του πυρήνα. Μειωμένη GABAεργική διαβίβαση παρατηρήθηκε, επίσης, ~ 2 μήνες μετά τη γέννηση σε επίμυες που είχαν εκτεθεί στην E12 σε 95% ατμό αιθανόλης (Winchester and Diaz, 2025).

Λειτουργικές διαταραχές

Η αυξημένη δραστηριότητα των νευρώνων της αμυγδαλής συνδέεται με αύξηση της ευαισθησίας σε ερεθίσματα συνδεδεμένα με κίνδυνο ή άγχος. Επίμυες που εκτέθηκαν σε ατμό αιθανόλης κατά τις ημέρες P3-P5 παρουσίασαν μακροχρόνια (έλεγχος στις 36-50 ημέρες μετά την έκθεσή τους) αύξηση των αυθόρμητων διεγερτικών μετασυναπτικών ρευμάτων (spontaneous excitatory postsynaptic currents, sEPSCs) στον έξω-βασικό πυρήνα της αμυγδαλής (Baculis *et al.*, 2015). Το εύρημα αυτό είναι ενδεικτικό αυξημένης γλουταμινεργικής διαβίβασης στην αμυγδαλή και δικαιολογεί την αγχώδη συμπεριφορά που επέδειξαν αυτά τα πειραματόζωα, καθώς είναι γνωστό ότι αυξημένη γλουταμινεργική διαβίβαση στην αμυγδαλή συνδέεται με αγχώδη συμπεριφορά (Masneuf *et al.*, 2014). Ο έξω-βασικός πυρήνας της αμυγδαλής αποτέλεσε και τον στόχο μελέτης των Cullen και συν. οι οποίοι έδωσαν στοιχεία αυξημένης συναπτικής δραστηριότητας ως αποτέλεσμα δομικών αλλαγών που συνίσταντο στην αύξηση του κορυφαίου δενδρίτη και κυρίως του αριθμού των ακάνθων οι οποίες είναι υπεύθυνες για την συναπτική διαβίβαση (Cullen *et al.*, 2013). Προς την ίδια κατεύθυνση, δηλαδή της αυξημένης διεγερσιμότητας του έξω-βασικού πυρήνα της αμυγδαλής, είναι και τα ευρήματα μελέτης στην οποία η αυξημένη

δραστηριότητα αποδόθηκε, αντίθετα με τη μελέτη των Baculis *et al*, σε μειωμένη GABAεργική διαβίβαση (Zhou *et al.*, 2010).

Συμπεριφορικές διαταραχές

Η προγεννητική έκθεση στην αλκοόλη δυνητικά οδηγεί παιδιά και ενήλικες σε παρορμητική συμπεριφορά και μείωση του συναισθήματος φόβου αυξάνοντας τον κίνδυνο ανάπτυξης αγχώδων ή καταθλιπτικών διαταραχών στα άτομα αυτά. Σε συμπεριφορικές δοκιμασίες πειραματόζωων, τα οποία είχαν εκτεθεί καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης σε ήπια συγκέντρωση (6% v/v) αιθανόλης, παρατηρήθηκε αγχώδης συμπεριφορά στην ενήλικη ζωή, δηλαδή 8 και 15 μήνες μετά τη γέννηση (Cullen *et al.*, 2013). Αγχώδη συμπεριφορά, με τη συμπεριφορική δοκιμασία του ανυψωμένου λαβυρίνθου, παρουσίασαν επίμυες 36-50 ημέρες μετά την έκθεσή τους σε ατμό αιθανόλης κατά τις ημέρες P3-P5 (Baculis *et al.*, 2015). Παρομοίως, μακροχρόνιες βλάβες με συμπτώματα αγχώδους συμπεριφοράς, παρουσίασαν στην ενήλικη ζωή (80-85 ημέρες μετά τη γέννηση) επίμυες οι οποίοι είχαν εκτεθεί προγεννητικά (E6-E20) στην αιθανόλη (Zhou *et al.*, 2010). Σε μοντέλο μεταγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη δεν βρέθηκε μετά από ~ 2 μήνες σημαντική επίδραση στην αγχώδη συμπεριφορά των επίμυων (Diaz *et al.*, 2014), ενώ σε άλλο μοντέλο όπου βρέθηκε μείωση της μνήμης και της έκφρασης φόβου στους 2 μήνες, το χαρακτηριστικό αυτό δεν παρατηρήθηκε την P80+ (Kozanian *et al.*, 2018). Υπάρχουν επίσης μελέτες που δείχνουν ότι μετά από μείωση της κοινωνικής συμπεριφοράς εξαιτίας οξείας έκθεσης σε αιθανόλη προγεννητικά, μπορεί να υπάρξει ανάκαμψη μετά από ένταξη σε κοινωνικό περιβάλλον (Ignacio *et al.*, 2014).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Μεγάλος όγκος μελετών σε ανθρώπους και πειραματόζωα υποδεικνύουν ότι η αμυγδαλή διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στις βλαπτικές επιδράσεις της προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη (Prenatal Ethanol Exposure – PAE).

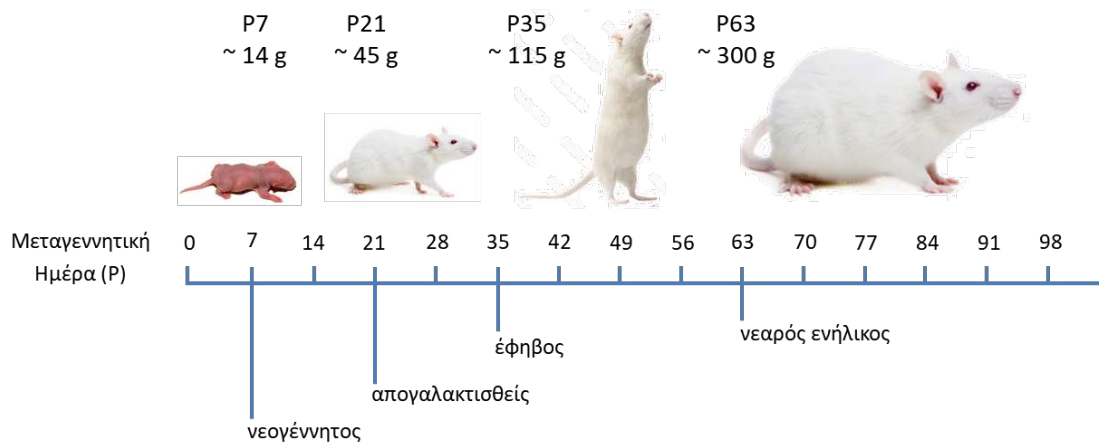
Επομένως, σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση πιθανών μακροχρόνιων αλλαγών που εμμένουν στην ενήλικη ζωή (2 μήνες μετά τη γέννηση) στα σωματίδια Nissl, όπως αυτά σημαίνονται μετά από χρώση με Cresyl Violet, των πυρήνων του αμυγδαλοειδούς σώματος του εγκεφάλου επίμυων Sprague-Dawley που έχουν εκτεθεί προγεννητικά και κατά την πρώιμη μεταγεννητική περίοδο στην αιθανόλη.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Πειραματόζωα

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 8 επίμυες στελέχους Sprague-Dawley, ηλικίας 54 - 62 ημερών εκ των οποίων 4 επίμυες (2 αρσενικοί, 2 θηλυκοί) βάρους $132,00 \pm 43,73$ gr. χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου και 4 επίμυες (2 αρσενικοί, 2 θηλυκοί) παρόμοιου βάρους $199,00 \pm 33,44$ gr. ($p > 0.05$) οι οποίοι είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (**Εικόνα 11**). Η πρόσβαση των επίμυων σε νερό και τροφή ήταν ελεύθερη, η θερμοκρασία περιβάλλοντος ήταν σταθερή ($21 \pm 2^\circ \text{C}$), ενώ ο φωτισμός του περιβάλλοντος ακολουθούσε ημερήσιο 12ωρο κύκλο φωτός - σκότους. Η στέγαση των επίμυων ήταν τρεις ανά κλωβό. Οι απόγονοι διαχωρίζονταν από την μητέρα την 24^η μεταγεννητική ημέρα, δηλαδή με το πέρας του απογαλακτισμού, σε διαφορετικούς κλωβούς ανάλογα με το φύλο.

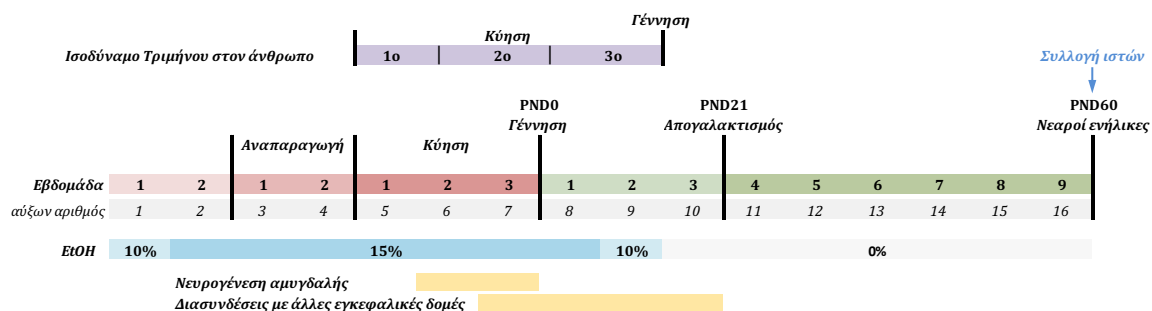


Εικόνα 11: Μεταγεννητικά στάδια ανάπτυξης του επίμυος (εικόνα αρχείου του εργαστηρίου).

Η εκτροφή των επίμυων και όλοι οι πειραματικοί χειρισμοί πραγματοποιήθηκαν στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων σύμφωνα με τις Οδηγίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης περί «Προστασίας Ζώων που χρησιμοποιούνται για επιστημονικούς λόγους (2010/63/ΕΕ)» υπό την καθοδήγηση της επιστημονικής υπευθύνου του πρωτοκόλλου κ. Αικατερίνης Ψαρροπούλου, Καθηγήτριας Φυσιολογίας του Τμήματος Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Πρωτόκολλο έκθεσης στην αιθανόλη

Όπως προαναφέρθηκε, η εκτροφή και οι πειραματικοί χειρισμοί των πειραματόζων πραγματοποιήθηκαν στο ζωοτροφείο του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Δύο εβδομάδες πριν το ζευγάρωμα τους, νεαροί, ενήλικες αρσενικοί και θηλυκοί Sprague-Dawley επίμυες έλαβαν διάλυμα αιθανόλης (EtOH) ως την μοναδική πηγή υγρών. Συγκεκριμένα, οι επίμυες έλαβαν διάλυμα EtOH 10% και 15% v/v κατά την πρώτη και κατά την δεύτερη εβδομάδα, αντίστοιχα. Καθ' όλη τη διάρκεια της αναπαραγωγής και της κύησης οι επίμυες συνέχισαν να λαμβάνουν 15% v/v EtOH. Πρότερη εμπειρία του επιστημονικού υπεύθυνου του πρωτοκόλλου έδειξε ότι η συγκέντρωση της χορηγηθείσας EtOH είναι ικανή ώστε να οδηγήσει σε απογόνους με παθολογικά χαρακτηριστικά ΡΑΕ, εξασφαλίζοντας ταυτόχρονα μικρό ποσοστό θνησιμότητας ή δυσκολίας στη σύλληψη, αντίθετα με πρωτόκολλα έκθεσης πειραματόζων σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις EtOH (Ψαρροπούλου και συν. αδημοσίευτα αποτελέσματα). Κατά την πρώτη μεταγεννητική εβδομάδα (Postnatal Day, PD 0-7) συνεχίστηκε η χορήγηση 15% v/v EtOH, κατά την δεύτερη μεταγεννητική εβδομάδα (Postnatal Day, PD 8-14) χορηγήθηκε 10% v/v EtOH και μετά την PD14 το διάλυμα EtOH αντικαταστάθηκε από νερό. Τα πειραματόζωα μεταφέρθηκαν κατά την 8^η μεταγεννητική εβδομάδα στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας όπου εγκλιματίστηκαν για μία περίπου εβδομάδα πριν να θυσιασθούν και να γίνει η συλλογή των ιστών (**Εικόνα 12**) όταν τα πειραματόζωα ήταν σε νεαρή ηλικία (Sengupta, 2013). Ως γνωστόν, η κύηση στον επίμυ έχει σημαντικά μικρότερη διάρκεια σε σχέση με τον άνθρωπο (21-22 ημέρες), ενώ τα νεογέννητα συνεχίζουν να παρουσιάζουν σημαντική ανάπτυξη του εγκεφάλου μεταγεννητικά (Cronise *et al.*, 2001; Tran and Kelly, 2003a). Κατά αναλογία με τον άνθρωπο, η ανάπτυξη του επίμυος παρουσιάζει τρία «ισοδύναμα τριμήνου» (trimester equivalents), το πρώτο και το δεύτερο από τα οποία αντιστοιχούν στις ημέρες κύησης του επίμυος (Gestational Day, GD) GD1-10 και GD11-21, αντίστοιχα, και το τρίτο το οποίο αντιστοιχεί στις ημέρες μετά τη γέννηση (Postnatal Day, PD) PD1-10 (Romijn *et al.*, 1991). Επομένως, το χρονοδιάγραμμα χορήγησης αιθανόλης της παρούσας μελέτης στόχευε, μεταξύ άλλων, στην χρονική κάλυψη των τριών ισοδύναμων τριμήνου του ανθρώπου.



Εικόνα 12: Χρονοδιάγραμμα σταδίων του πρωτοκόλλου προγεννητικής και μεταγεννητικής έκθεσης των επίμυων στην EtOH. Κατά την 8^η μεταγεννητική εβδομάδα (15^η εβδομάδα του πρωτοκόλλου) πραγματοποιήθηκε η μεταφορά των πειραματόζων στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ενώ μια εβδομάδα αργότερα έγινε η συλλογή του εγκεφαλικού ιστού. Στο διάγραμμα παρουσιάζονται, επίσης, και τα «ισοδύναμα τριμήνου» στον άνθρωπο με τις αντίστοιχες προ- και μεταγεννητικές περιόδους του επίμυος, καθώς και οι περίοδοι νευρογένεσης και δημιουργίας διασυνδέσεων της αμυγδαλής με άλλες εγκεφαλικές δομές.

Μονιμοποίηση των ιστών

Τα πειραματόζωα αναισθητοποιήθηκαν με ενδομυϊκή χορήγηση 200 µl κεταμίνης (100mg/ml, Imalgene 1000) ακολουθούμενη από ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση 2 mL προποφόλης (20mg/ml, @Lipuro, B. Braun Melsungen AG, Germany). Ακολούθησε διάνοιξη του θώρακα και ενδοκαρδιακή έγχυση αρχικά διαλύματος φυσιολογικού ορού (0,9% NaCl, 15 min), και στη συνέχεια διαλύματος 4% παραφορμαλδεΰδης (Paraformaldehyde, PFA, Sigma-Aldrich, 20 min), σε διάλυμα μείγματος 0,2M Na₂PO₄ και K₂PO₄ με χρήση περισταλτικής αντλίας (Gilson MINIPULS 3, 48 στροφές/min). Στη συνέχεια, ο μονιμοποιητής εγκέφαλος εξήχθη από το κρανίο, εμβαπτίσθηκε σε διάλυμα 4% PFA σε θερμοκρασία 4° C για 1 ώρα και κατόπιν σε υπέρτονο 30% w/v διάλυμα σουκρόζης (MP Biomedicals, LCC), με σκοπό την κρυοπροστασία του, και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία 4° C για 24-48 ώρες. Μετά την καταβύθισή του ακολούθησε ταχεία ψύξη του με εμβάπτιση σε διάλυμα ισοπεντανίου θερμοκρασίας -45° C και αποθήκευσή του στους -80° C. Τομές πάχους 10 µm κόπηκαν σε κρυοτόμο (Leica CM1850, Leica Biosystems, IL, United States) σε θερμοκρασία -20° C, τοποθετήθηκαν σε ζελατινοποιημένες αντικειμενοφόρες πλάκες και αποθηκεύτηκαν στους -20° C.

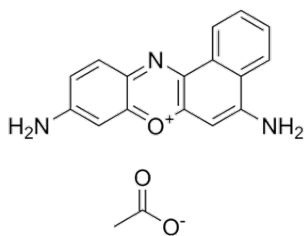
Χρώση Nissl

Η ιστολογική χρώση του αμυγδαλοειδούς σώματος πραγματοποιήθηκε με την χρώση Nissl. Για τον σκοπό αυτό τομές του εγκεφάλου που είχαν αποθηκευτεί στους -20°C αφέθηκαν να επανέλθουν σε θερμοκρασία δωματίου και χρώστηκαν με Cresyl Violet σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο:

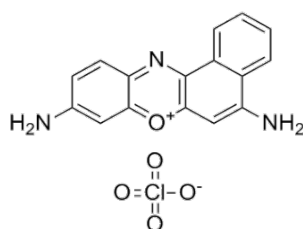
- › εμβάπτιση των τομών για 10 min σε διάλυμα $\text{EtOH}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CHCl}_3$ 6:4:1 v/v/v, με σκοπό την διαλεύκανση του ιστού
- › εμβάπτιση για 3 min σε νερό και για 5 min σε διάλυμα 5% Cresyl Violet ($\text{pH}=4,5$)
- › εμβάπτιση του ιστού για 2 min σε νερό και για 5 sec σε διαδοχικά διαλύματα EtOH (50%, 75%, 95% και 100%) με σκοπό την αφυδάτωσή του
- › εμβάπτιση του ιστού σε ξυλόλη μέχρι την κάλυψή τους με καστορέλαιο ως υλικό κάλυψης

Η κάλυψη των τομών με καστορέλαιο χρησιμοποιείται εναλλακτικά του υλικού DPX (Distyrene, plasticizer & xylene), το οποίο αποτελεί μέσον προσκόλλησης (mounting medium) (Shylaja *et al.*, 2019), καθώς προσφέρει ικανοποιητική διατήρηση των ιστών με υψηλή καθαρότητα επιτρέποντας την λήψη εικόνων μεγάλης ευκρίνειας.

Η χρώση Nissl ανακαλύφθηκε από τον Γερμανό παθολογοανατόμο Franz Alexander Nissl το 1884 και έκτοτε χρησιμοποιείται ευρέως για την σήμανση των ομώνυμων σωματίων Nissl. Η χρώση Nissl με την χρήση της Cresyl Violet (μοριακός τύπος $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}$, **Εικόνα 13**) βασίζεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ του βασεόφιλου, αρνητικά φορτισμένου, ριβοσωμικού RNA και του βασικού χημικού χαρακτήρα της χρωστικής αυτής.



Cresyl violet acetate



Cresyl violet perchlorate

Εικόνα 13: Χημική δομή της Cresyl Violet σε οξική (αριστερά) ή υπερχλωρική (δεξιά) μη-πρωτονιωμένη μορφή.

Όταν βρίσκεται στην μη-πρωτονιωμένη της μορφή (**Εικόνα 13**), η Cresyl Violet είναι επαρκώς λιπόφιλη ώστε να διαπερνά ευχερώς την κυτταρική μεμβράνη και να συσσωρεύεται σε οργανίδια με υψηλή περιεκτικότητα σε νουκλεϊκά οξέα, και επομένως έντονη πρωτεϊνοσύνθεση, όπως είναι τα σωμάτια Nissl τα οποία αποτελούν συσσωματώματα αδρού ενδοπλασματικού δικτύου με ριβοσώματα και συνεπώς εντοπίζονται στα ριβοσώματα, το ενδοπλασματικό δίκτυο και τον πυρηνίσκο. Δεδομένης της έντονης πρωτεϊνοσυνθετικής ικανότητας των νευρώνων, θεωρείται ότι η Cresyl Violet χρωματίζει εκλεκτικά το κυτταρόπλασμα των νευρώνων και σε μικρότερο βαθμό τους εγγύς δενδρίτες ενώ ο άξονας δεν παρουσιάζει χρώση καθώς στερείται ενδοπλασματικού δικτύου. Αντίθετα με τους νευρώνες, τα γλοιακά κύτταρα παρουσιάζουν περιορισμένη χρώση λόγω της περιορισμένης πρωτεϊνοσύνθεσης τους. Για το λόγο αυτό, η Cresyl Violet χρησιμοποιείται στην εκλεκτική ταυτοποίηση, οπτικοποίηση και συνεπώς κατανομή των νευρώνων στον εγκεφαλικό ιστό έναντι άλλων κυτταρικών τύπων του εγκεφάλου. Εν κατακλείδι, η χρώση Nissl χρησιμοποιείται στη σήμανση του RNA που βρίσκεται στα ριβοσώματα και το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο των νευρώνων. Η χρώση μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στην ανίχνευση νευρωνικής βλάβης (πχ χρωματόλυση μετά από τραύμα) ή τον εντοπισμό πυκνωτικών κυττάρων ενδεικτικών απόπτωσης ή κυτταρικού θανάτου.

Φωτογράφιση τομών και ανάλυση εικόνων

Οπτικό μικροσκόπιο τύπου KERN OZL-463, KERN & Sohn GmbH, εξοπλισμένο με κάμερα τύπου KERN ODC 832 (KERN & Sohn GmbH), χρησιμοποιήθηκε για την φωτογράφιση τομών της αμυγδαλής χρωματισμένων με Cresyl Violet. Οι φωτογραφίες αποθηκεύτηκαν σε ψηφιακή μορφή σε H/Y.

Η επιλογή της περιοχής των πυρήνων που μετρήθηκαν βασίσθηκε σε συγκεκριμένα σημεία αναφοράς, όπως η έξω κάψα (external capsule), σύμφωνα με τον άτλαντα των Paxinos and Watson (*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2006).

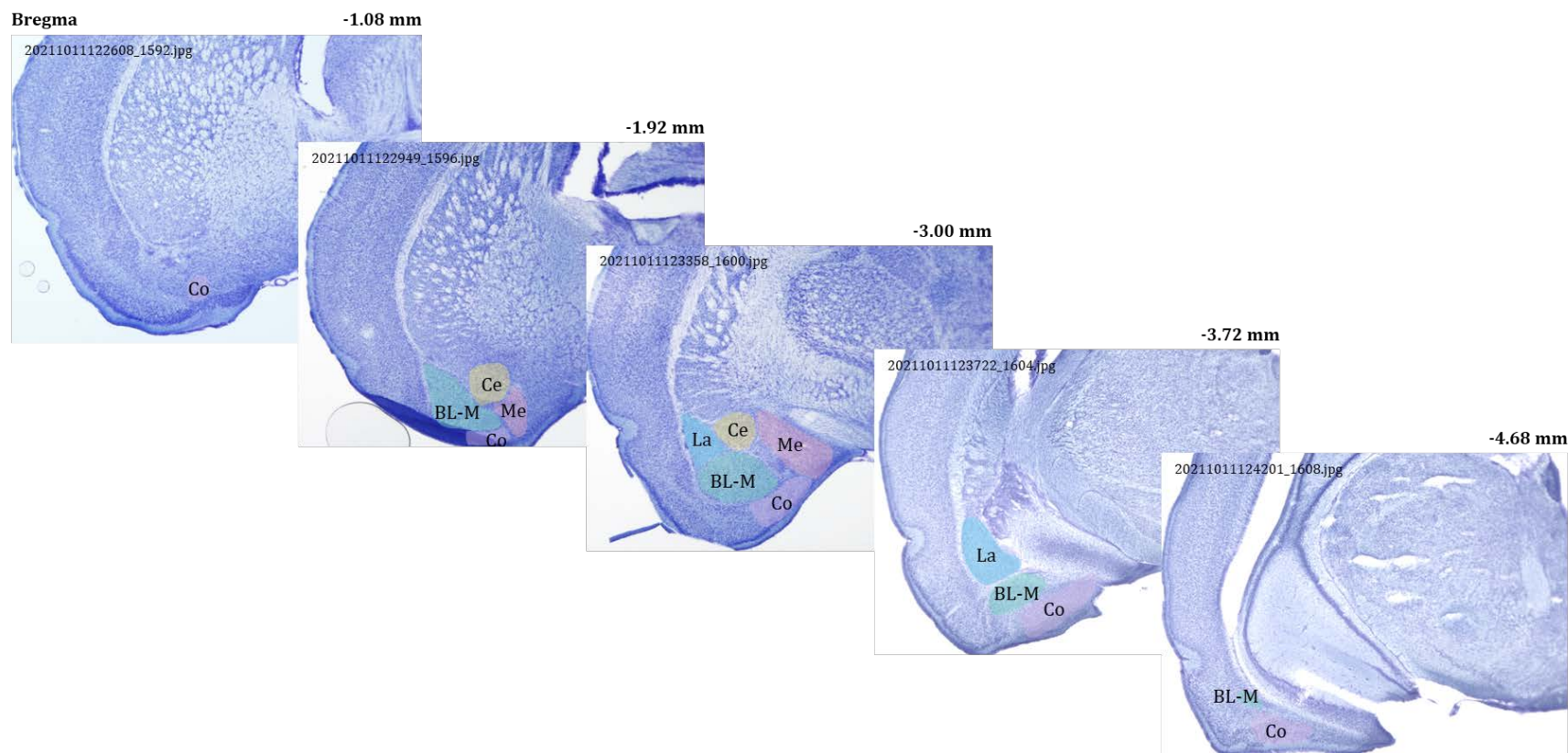
Το λογισμικό ImageJ χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία και ανάλυση των ψηφιακών φωτογραφιών. Η ένταση σήματος στις τομές που χρώσθηκαν με Cresyl Violet προσδιορίσθηκε με βάση την φωτεινότητα σε κλίμακα 256 επιπέδων (0-255, 0=απόλυτο μαύρο & 255=απόλυτο λευκό). Αρχικά, έγινε επιλογή τριών περιοχών του

ιστού, οι οποίες κατά σύμβαση δεν έφεραν πληροφορία. Υπολογίσθηκε ο μέσος όρος φωτεινότητας των τριών αυτών περιοχών, ο οποίος και ορίσθηκε ως σήμα υποβάθρου. Η τιμή του σήματος υποβάθρου αφαιρέθηκε ψηφιακά από την ένταση φωτεινότητας της περιοχής ενδιαφέροντος της αμυγδαλής (background subtraction). Η μέτρηση της έντασης σήματος για κάθε πυρήνα της αμυγδαλής πραγματοποιήθηκε μετά από επιλογή της συνολικής επιφάνειας της περιοχής που αντιστοιχεί στον εκάστοτε πυρήνα (έξω: Lateral, La, γαλάζιο, βασικός: Basolateral, BL-M, πράσινο, κεντρικός: Central, Ce, κίτρινο, έσω: Medial, Me, ροζ και φλοιώδης: Cortical, Co, μωβ, **Εικόνα 14**). Στην στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή φωτεινότητας που προέκυψε από το ιστόγραμμα έντασης σήματος της περιοχής που μετρήθηκε. Η ανάλυση εικόνας πραγματοποιήθηκε στις φωτογραφίες του **Πίνακα 4**.

Επιπλέον, προκειμένου να διερευνηθούν διαφορές στο μέγεθος της αμυγδαλής μετά από προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη, μετρήθηκε, με τη χρήση του λογισμικού ImageJ, η συνολική επιφάνεια της περιοχής που αντιστοιχεί στον εκάστοτε πυρήνα της αμυγδαλής σε επίμυες της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE.

Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων

Οι τιμές της έντασης σήματος που προέκυψαν από την ανάλυση εικόνων διαφορετικών τομών εκφράστηκαν ως μέσοι όροι ($\pm$ τυπική απόκλιση, Standard Deviation, SD). Σε όλες τις περιπτώσεις το n αντιπροσωπεύει τον αριθμό πειραματόζωων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη. Για την σύγκριση των τιμών μεταξύ της ομάδας μαρτύρων και PAE χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test. Τιμές θεωρήθηκαν στατιστικώς διαφορετικές στις περιπτώσεις όπου το $p < 0,05$.



Εικόνα 14: Επισκόπηση των επιμέρους πυρήνων του αμυγδαλοειδούς σώματος που εντοπίζονται κατά μήκος του προσθιο-οπίσθιου άξονα του εγκεφάλου αρουραίου σύμφωνα με τις συντεταγμένες των Paxinos and Watson (*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2006). Διακρίνονται οι πυρήνες: έξω (Lateral, La, γαλάζιο), βασικός (Basolateral, BL-M, πράσινο), κεντρικός (Central, Ce, κίτρινο), έσω (Medial, Me, ροζ) και φλοιώδης (Cortical, Co, μωβ).

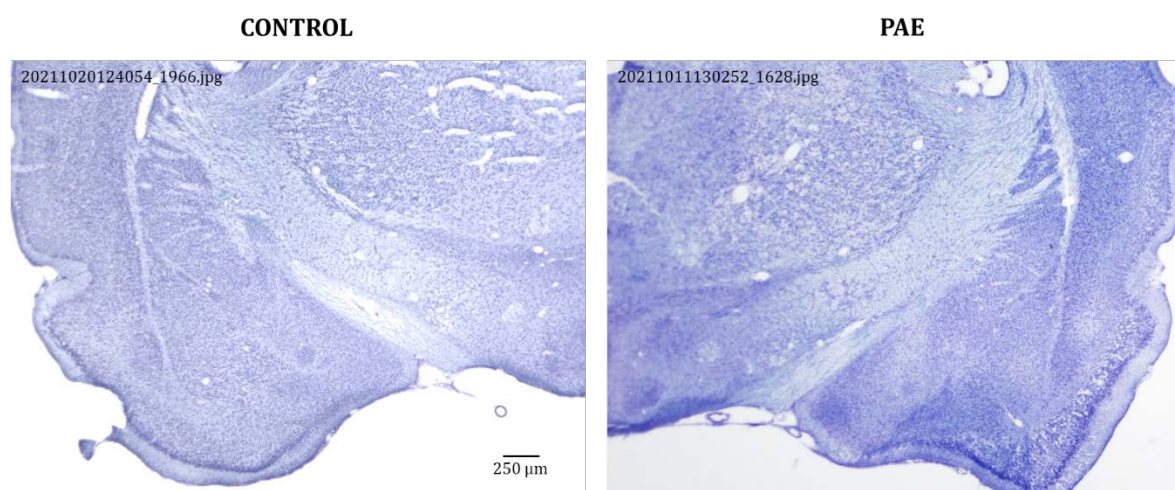
Πίνακας 4: Δεδομένα της μελέτης που αναλύθηκαν. Τα αρχεία που αναλύθηκαν ήταν φωτογραφίες της ομάδας ελέγχου (n=4) και της ομάδας PAE (n=4) σε διαφορετικό βρέγμα του δεξιού (R) και του αριστερού (L) ημισφαιρίου θηλυκών και αρσενικών επίμυων.

ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	ΦΥΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ	ΒΡΕΓΜΑ (mm)	ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ	ΗΜΙΣΦ
		09_CONTROL	-1.92	_20211006164159_1108.jpg	L
			-2.04	_20211011143331_1706.jpg	L
			-2.52	_20211011143259_1705.jpg	R
			-3.24	_20211011142954_1701.jpg	R
			-3.48	_20211011143026_1702.jpg	L
			-4.56	_20211011143827_1709.jpg	R
		10_CONTROL	-1.56	_20211020123429_1962.jpg	L
			-1.80	_20211020123940_1965.jpg	R
			-3.12	_20211020124054_1966.jpg	L
			-3.36	_20211020124621_1969.jpg	R
			-3.96	_20211020124706_1970.jpg	L
			-3.84	_20211020125046_1973.jpg	R
		11_CONTROL	-2.04	_20211011113825_1549.jpg	L
			-2.16	_20211011114142_1552.jpg	R
			-3.60	_20211011114359_1556.jpg	R
			-4.68	_20211011114211_1553.jpg	L
		12_CONTROL	-1.72	_202110111123031_1597.jpg	L
			-1.80	_202110111122949_1596.jpg	R
			-2.28	_202110111123358_1600.jpg	R
			-2.52	_202110111123439_1601.jpg	L
			-3.48	_202110111123839_1605.jpg	L
			-4.44	_202110111123722_1604.jpg	R
ΟΜΑΔΑ PAE	ΦΥΛΟ	ΑΡΙΘΜΟΣ	ΒΡΕΓΜΑ (mm)	ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΑ	ΗΜΙΣΦ
		05_PAE	-1.56	_20211019152414_1871.jpg	R
			-2.04	_20211019153027_1876.jpg	L
		06_PAE	-1.20	_20211019155421_1893.jpg	L
			-1.80	_20211019155354_1892.jpg	R
			-2.04	_20211019161439_1896.jpg	R
			-2.64	_20211019162103_1902.jpg	L
		07_PAE	-2.92	_20211019161930_1901.jpg	R
			-2.16	_20211020121331_1949.jpg	R
			-2.28	_20211020121450_1950.jpg	L
			-2.52	_20211020121808_1953.jpg	R
		08_PAE	-2.76	_20211020122002_1954.jpg	L
			-3.00	_20211020122332_1957.jpg	R
			-3.24	_20211020122449_1958.jpg	L
			-1.56	_202110111130016_1625.jpg	L
			-1.72	_202110111130327_1629.jpg	L
			-1.80	_202110111125639_1620.jpg	R
			-2.04	_202110111130653_1633.jpg	L
			-2.16	_202110111125953_1624.jpg	R
			-2.64	_202110111130252_1628.jpg	R

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Επίδραση της PAE στην χρώση Nissl στην αμυγδαλή

Η επίδραση της προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη (PAE) διερευνήθηκε μελετώντας την ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στην αμυγδαλή επίμυων της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE. Η ένταση σήματος μετρήθηκε σε κάθε πυρήνα της αμυγδαλής με την χρήση του προγράμματος ImageJ, χωρίς να δίνεται έμφαση στις υποδιαίρεσεις (divisions) του κάθε πυρήνα. Στην **Εικόνα 15** παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικές φωτογραφίες στεφανιαίων τομών εγκεφάλου επίμυος της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE.



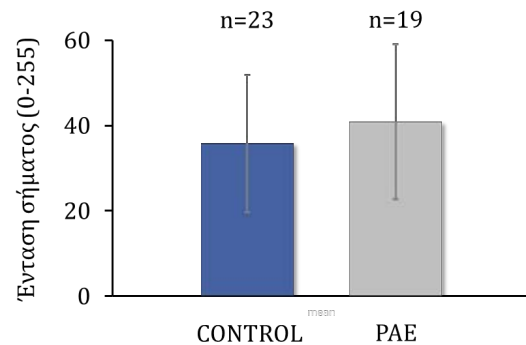
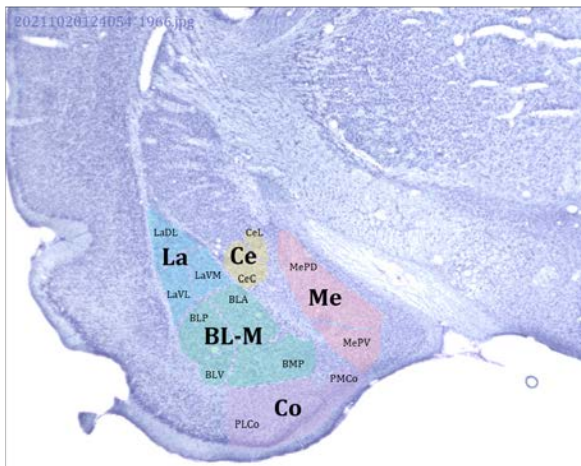
Εικόνα 15: Χρώση Cresyl Violet σήμανσης των σωματιδίων Nissl της αμυγδαλής σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (αριστερά) και της ομάδας PAE (δεξιά) (φωτογραφίες από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl της αμυγδαλής στο σύνολο των τομών του εγκεφάλου των PAE επίμυων (n=4) που μελετήθηκαν βρέθηκε μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου (n=4), μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 4**, Σύνολο, Student's t-test, $p > 0,05$; **Εικόνα 16**). Αξίζει να σημειωθεί ότι εκτός από τον έξω πυρήνα, όπου η ένταση σήματος ήταν ίδια μεταξύ των δύο ομάδων, οι υπόλοιποι πυρήνες παρουσίασαν μεγαλύτερη ένταση σήματος στην ομάδα PAE σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν

στατιστικά σημαντική (**Πίνακας 4**). Επισημαίνεται ότι οι μέσοι όροι που εμφανίζονται στον **Πίνακα 4** προέκυψαν από την ένταση σήματος που μετρήθηκε σε 2-7 φωτογραφίες που ελήφθησαν από κάθε πειραματόζωο σε διαφορετικό βρέγμα.

Πίνακας 4: Μέσος όρος ($\pm$ SD) της έντασης σήματος των σωματιδίων Nissl των πυρήνων της αμυγδαλής σε επίμυες της ομάδας ελέγχου ($n=4$) και PAE επίμυες ($n=4$).

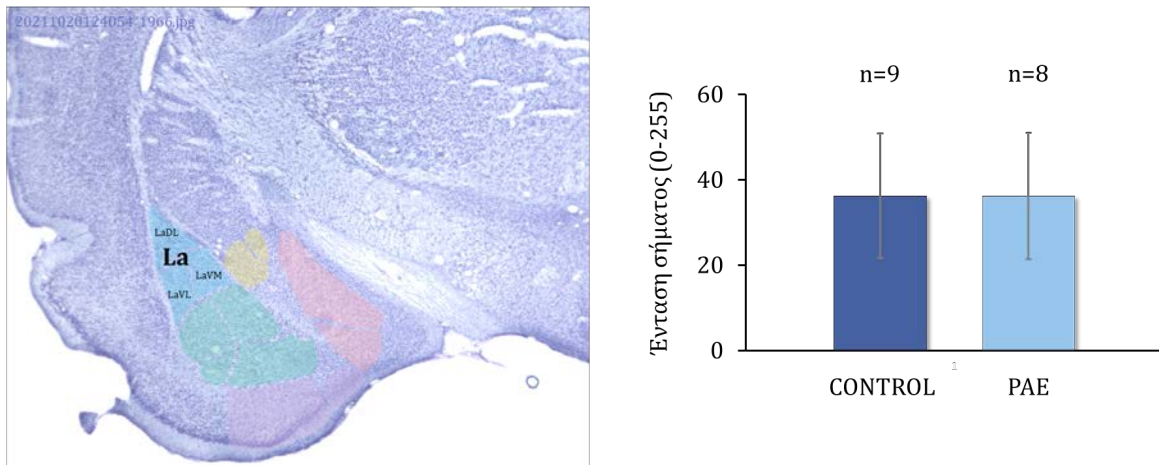
Πυρήνας	Control ($n=4$)	PAE ($n=4$)
Έξω (Lateral)	$36,2 \pm 14,5$	$36,2 \pm 14,7$
Βασικός (Basolateral-medial)	$32,3 \pm 15,6$	$38,1 \pm 13,3$
Έσω (Medial)	$27,2 \pm 8,2$	$29,2 \pm 13,1$
Κεντρικός (Central)	$36,3 \pm 16,3$	$39,9 \pm 16,9$
Φλοιώδης (Cortical)	$43,5 \pm 17,8$	$57,8 \pm 18,4$
Σύνολο	$38,8 \pm 16,0$	$40,9 \pm 18,1$



Εικόνα 16: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του συνόλου των πυρήνων της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (γκρι) ($n=23$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την ομάδα ελέγχου και $n=19$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την PAE ομάδα).

Έξω πυρήνας

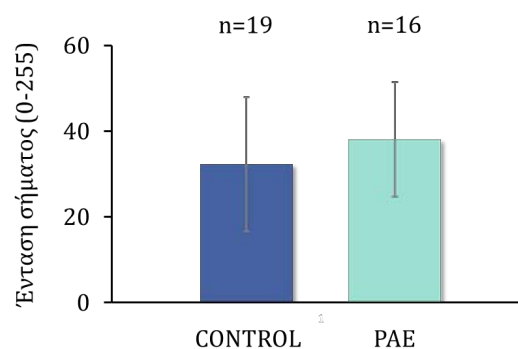
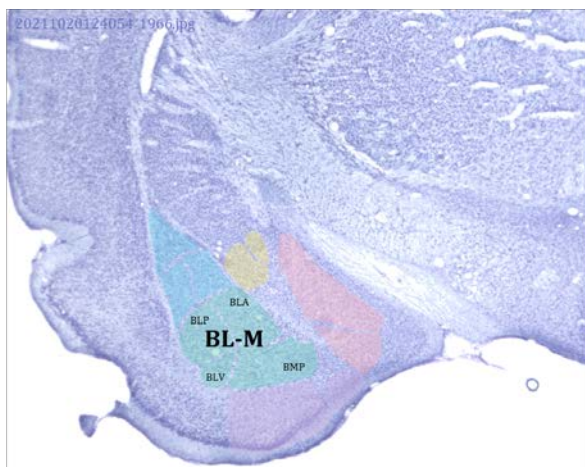
Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στον έξω πυρήνα της αμυγδαλής (Lateral, La), συμπεριλαμβανομένων των υποπυρήνων της (LaDL, LaDM, LaVM), των PAE επίμυων δεν διέφερε σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου (Student's t-test, $p > 0,05$; $n=9$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την ομάδα ελέγχου και $n=8$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την PAE ομάδα; **Εικόνα 17**).



Εικόνα 17: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του έξω πυρήνα της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (γαλάζιο) (φωτογραφία από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Βασικός πυρήνας

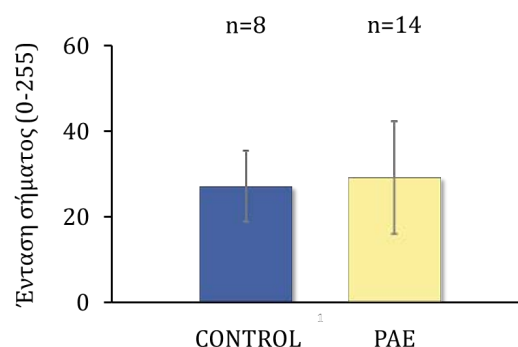
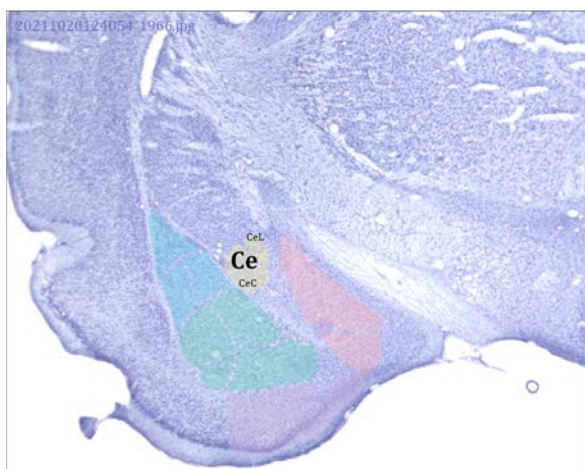
Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στον βασικό πυρήνα της αμυγδαλής (BL-M), συμπεριλαμβανομένων των υποπυρήνων της (BLP, BLA, BLV, BMP), των PAE επίμυων ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου, μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Student's t-test, $p > 0,05$; $n=19$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την ομάδα ελέγχου και $n=16$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την PAE ομάδα; **Εικόνα 18**).



Εικόνα 18: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του βασικού πυρήνα της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (πράσινο) (φωτογραφία από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Κεντρικός πυρήνας

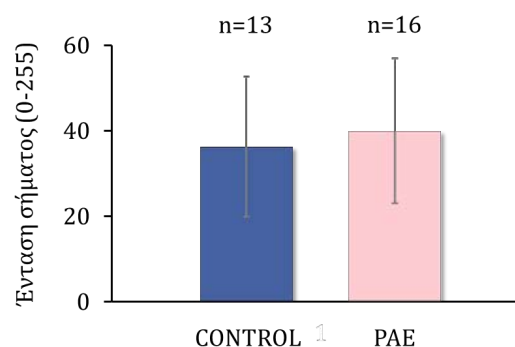
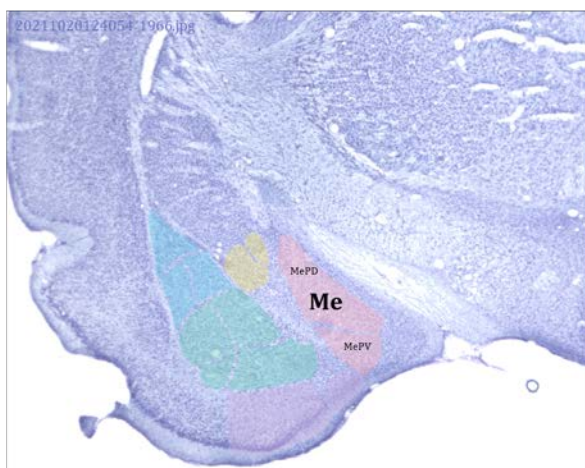
Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής (Ce), συμπεριλαμβανομένων των υποπυρήνων της (CeL, CeC), των PAE επίμυων ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου, μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Student's t-test, $p > 0,05$; $n=8$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα Control και $n=14$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα PAE; **Εικόνα 19**).



Εικόνα 19: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του κεντρικού πυρήνα της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (κίτρινο) (φωτογραφία από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Έσω πυρήνας

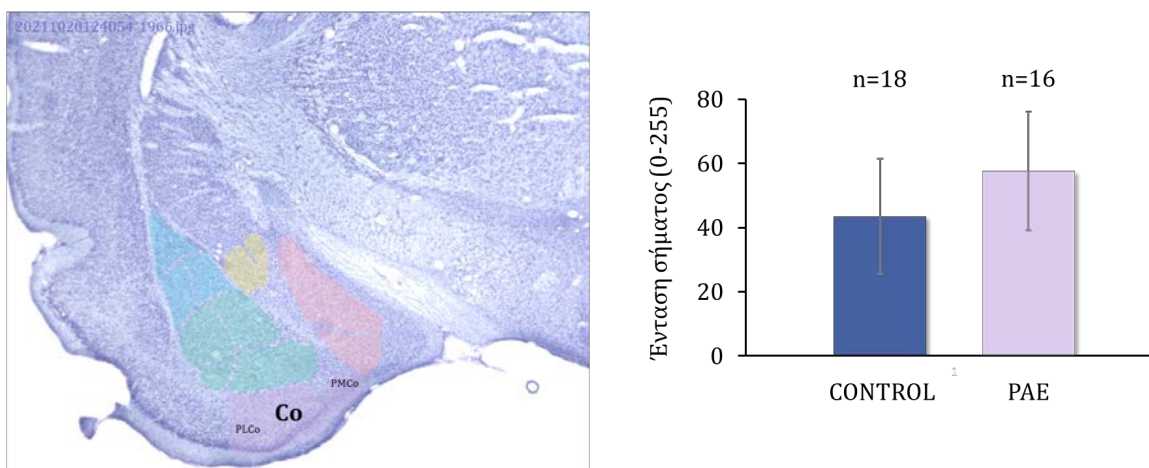
Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στον έσω πυρήνα της αμυγδαλής (Me), συμπεριλαμβανομένων των υποπυρήνων της (MePD, MePV), των PAE επίμυων ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου, μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Student's t-test, $p > 0,05$; $n=13$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την ομάδα ελέγχου και $n=16$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την PAE ομάδα; **Εικόνα 20**).



Εικόνα 20: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του κεντρικού πυρήνα της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (ροζ) (φωτογραφία από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Φλοιώδης πυρήνας

Η ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl στον φλοιώδη πυρήνα της αμυγδαλής (Co), συμπεριλαμβανομένων των υποπυρήνων της (PMCo, PLCo), των PAE επίμυων ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή της ομάδας ελέγχου, μολονότι η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Student's t-test, $p > 0,05$; $n=18$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την ομάδα ελέγχου και $n=16$ φωτογραφίες από 4 πειραματόζωα για την PAE ομάδα; **Εικόνα 21**).



Εικόνα 21: Ένταση σήματος των σωματιδίων Nissl του φλοιώδους πυρήνα της αμυγδαλής μετά από χρώση με Cresyl Violet σε επίμυες της ομάδας ελέγχου (μπλε) και επίμυες που έχουν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη (μωβ) (φωτογραφία από το αρχείο του Εργαστηρίου Φαρμακολογίας).

Επίδραση της PAE στο μέγεθος των πυρήνων της αμυγδαλής

Προκειμένου να διερευνηθούν πιθανές διαφορές στο μέγεθος των επιμέρους πυρήνων της αμυγδαλής ως αποτέλεσμα της προγεννητικής έκθεσης στην αλκοόλη, μετρήθηκε με τη χρήση του λογισμικού ImageJ, η συνολική επιφάνεια της περιοχής που αντιστοιχεί στον εκάστοτε πυρήνα της αμυγδαλής σε επίμυες της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε φωτογραφίες της ομάδας ελέγχου ($n=2$ φωτογραφίες) και φωτογραφίες της ομάδας PAE ($n=3$ φωτογραφίες) με

παρόμοιο βρέγμα (~ - 2,16 mm) σύμφωνα με τον άτλαντα των Paxinos & Watson (*The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 2006). Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέγεθος των επιμέρους πυρήνων της αμυγδαλής μεταξύ των δύο ομάδων επίμυων ($p > 0,05$, **Πίνακας 5**).

Πίνακας 5: Μέσος όρος ($\pm$ SD) της επιφάνειας (pixels) της περιοχής των πυρήνων της αμυγδαλής σε επίμυες της ομάδας ελέγχου ($n=2$ φωτογραφίες) και PAE επίμυες ($n=3$ φωτογραφίες). Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της ομάδας ελέγχου και της ομάδας PAE ($p > 0,05$).

<i>Πυρήνας</i>	<i>Control (n=2)</i>	<i>PAE (n=3)</i>
<i>Έξω (Lateral)</i>	10.526,5 $\pm$ 3.065,3	10.845,3 $\pm$ 635,9
<i>Βασικός (Basolateral-medial)</i>	74.433,5 $\pm$ 22.605,5	72.957,0 $\pm$ 10.805,3
<i>Έσω (Medial)</i>	47.080,5 $\pm$ 5.765,0	45.828,3 $\pm$ 2.774,6
<i>Κεντρικός (Central)</i>	30.436,5 $\pm$ 1.518,2	30.633,0 $\pm$ 623,9
<i>Φλοιώδης (Cortical)</i>	15.847,5 $\pm$ 3.690,4	14.646,5 $\pm$ 33,23

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη δεν παρέχει ενδείξεις πιθανών μακροπρόθεσμων αλλαγών στα σωμάτια Nissl των πυρήνων της αμυγδαλής ως αποτέλεσμα της έκθεσης στην αιθανόλη κατά την προγεννητική και πρώιμη μεταγεννητική περίοδο. Αν και δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ένταση σήματος με την χρώση Nissl σε κανέναν από τους επιμέρους πυρήνες της αμυγδαλής, ωστόσο, σε όλους τους πυρήνες, πλην του έξω πυρήνα, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη ένταση σήματος στις τομές των ΡΑΕ επίμυων σε σχέση με τις τομές των επίμυων της ομάδας ελέγχου. Η συνολική επιφάνεια του κάθε επιμέρους πυρήνα δεν διέφερε ανάμεσα στις δύο ομάδες επίμυων. Όσον αφορά την σωματική ανάπτυξη των επίμυων δεν βρέθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επίμυων της ομάδας ελέγχου και των ΡΑΕ επίμυων. Η φυσιολογική σωματική ανάπτυξη των πειραματόζωων και η έλλειψη διαφορών στον όγκο των πυρήνων της αμυγδαλής υποδηλώνουν ότι δεν παρατηρούνται μακροπρόθεσμες μακροσκοπικές βλάβες στη δομή της αμυγδαλής μετά την προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη. Αντίθετα, η ενδεχόμενη μεγαλύτερη ένταση σήματος στη χρώση Nissl δύο μήνες μετά τη γέννηση επίμυων που έχουν εκτεθεί προγεννητικά στην αιθανόλη είναι πιθανώς ενδεικτική αντισταθμιστικού ρυθμιστικού μηχανισμού με τον οποίο οι νευρώνες αυξάνουν την πρωτεϊνοσύνθεση ως μέσο επανάκαμψης από βλάβη κατά την κρίσιμη περίοδο της οντογενετικής ανάπτυξης της αμυγδαλής όταν αυτή δεν είναι ικανή να οδηγήσει σε εκφύλιση των νευρώνων. Στο πλαίσιο αυτής της διαδικασίας, τα σωμάτια Nissl ως μέρος του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου και των ελευθέρων ριβοσωμάτων του κυττάρου αποτελούν σημεία συσσώρευσης νουκλεϊκών οξέων και συνδέονται με έντονη πρωτεϊνοσυνθετική ικανότητα των νευρώνων (Brady *et al.*, 2014).

ΡΑΕ και επιπτώσεις στην αμυγδαλή

Όσον αφορά τις επιδράσεις της ΡΑΕ στην αμυγδαλή υπάρχει διχογνωμία στη διεθνή βιβλιογραφία με πολλές μελέτες να καταδεικνύουν δομικές και λειτουργικές αλλαγές και άλλες να υποστηρίζουν ότι οι σημαντικές μεταβολές παρουσιάζονται σε άλλες δομές του εγκεφάλου.

Απεικονιστικές μελέτες σε ανθρώπους δείχνουν ότι παιδιά με Fetal Alcohol Spectrum Disorders (FASD) ή PAE παρουσιάζουν μειωμένο συνολικό όγκο του εγκεφάλου τους (Autti-Rämö *et al.*, 2002) και μειωμένο όγκο εγκεφαλικών περιοχών όπως ο ιππόκαμπος, ο φλοιός, τα βασικά γάγγλια, το μεσολόβιο και η παρεγκεφαλίδα, ενώ τα ευρήματα για την αμυγδαλή είναι διφορούμενα (Riikonen *et al.*, 1999, 2005; Archibald *et al.*, 2001; Nardelli *et al.*, 2011a; Roussotte *et al.*, 2012). Νεότερα δεδομένα δείχνουν διαταραχή των μοτίβων ωρίμανσης της αμυγδαλής και του προμετωπιαίου φλοιού σε παιδιά και εφήβους με PAE (Roeske *et al.*, 2025). Σε πειραματόζωα, η έκθεση σε μικρή συγκέντρωση αιθανόλης κατά την κύηση οδηγεί σε μόνιμες (8 και 15 μήνες μετά την PAE) μορφολογικές αλλαγές στους πυραμιδικούς νευρώνες βασικού πυρήνα της αμυγδαλής (BLA), με αύξηση του μήκους των δενδριτών και του αριθμού των ακάνθων (Cullen *et al.*, 2013), αλλαγές οι οποίες αποτελούν ενδείξεις αυξημένης συναπτικής δραστηριότητας. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται προς την ίδια κατεύθυνση με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης καθώς η πιθανώς αυξημένη χρώση Nissl, δηλαδή αυξημένη πρωτεϊνοσυνθετική ικανότητα των νευρώνων, θα μπορούσε να συμβαδίζει με τις μακροχρόνιες αλλαγές που παρατηρούνται στους δενδρίτες και τις άκανθες της αμυγδαλής. Επιπλέον, μεταβατικές δομικές αλλαγές στον όγκο και την πυκνότητα των κυττάρων έχουν παρατηρηθεί στον βασικό πυρήνα της αμυγδαλής. Πράγματι, μείωση του όγκου και αύξηση της πυκνότητας των κυττάρων της αμυγδαλής έχει παρατηρηθεί στην P50, αλλά όχι στην P70, ενώ τα ευρήματα στην P80 υποστηρίζουν αύξηση του όγκου και μείωση της πυκνότητας των κυττάρων του πυρήνα μετά από προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη καθ' όλη τη διάρκεια της κύησης (Kozanian *et al.*, 2018). Αντίθετα με το αυξημένο μήκος των δενδριτών και τον αυξημένο αριθμό των ακάνθων μετά από παρατεταμένη προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη, η οξεία χορήγηση της και μάλιστα κατά την πρώιμη μεταγεννητική περίοδο προκαλεί βλάβη στον κεντρικό πυρήνα της αμυγδαλής με απόπτωση των νευρώνων της μέσω ενεργοποίησης του ενδοπλασματικού στρες και κασπασών (Balaszczuk *et al.*, 2011).

Η PAE επιφέρει, επίσης, ανισορροπία στη νευροδιαβίβαση της αμυγδαλής. Σε επίμυες παρατηρήθηκε αύξηση της συχνότητας των γλουταμινεργικών sEPSCs στη BLA μετά

από έκθεση σε ατμό αιθανόλης (Baculis *et al.*, 2015), υποδεικνύοντας αυξημένη απελευθέρωση γλουταμικού οξέος και υπερδραστηριότητα των πυραμιδικών νευρώνων της αμυγδαλής. Αντίθετα, άλλες μελέτες έδειξαν ότι η PAE μειώνει τη GABAεργική αναστολή στη BLA, οδηγώντας σε υπερδιεγερσιμότητα που μπορεί να αναστραφεί με αγωνιστές των υποδοχέων GABA_A όπως η μιδαζολάμη (Zhou *et al.*, 2010; Winchester and Diaz, 2025).

Τέλος, η υπερδιεγερσιμότητα της αμυγδαλής συνδέεται με αυξημένη ευαισθησία σε ερεθίσματα που προκαλούν άγχος όπως επίσης και τροποποίηση της συναισθηματικής συμπεριφοράς. Σε ζωικά μοντέλα, η PAE προκαλεί μακροχρόνια αύξηση της γλουταμινεργικής δραστηριότητας στη BLA, οδηγώντας σε αγχώδη συμπεριφορά (Zhou *et al.*, 2010; Cullen *et al.*, 2013; Baculis *et al.*, 2015). Ενώ ορισμένα μοντέλα έδειξαν μακροχρόνια αύξηση άγχους, άλλα μοντέλα κατέγραψαν μεταβατικές αλλαγές στη μνήμη που σχετίζεται με το συναίσθημα του φόβου ή καμία σημαντική επίδραση ανάλογα με την ηλικία στην οποία ελέγχεται η πειραματική διαδικασία (Diaz *et al.*, 2014; Kozanian *et al.*, 2018). Οι μεταβατικές αυτές αλλαγές φαίνεται να αφορούν και τις κοινωνικές δυσλειτουργίες που προκαλούνται από την PAE καθώς παρατηρείται βελτίωση αυτών των δυσλειτουργιών όταν το πειραματόζωο βρεθεί σε εμπλουτισμένο κοινωνικό περιβάλλον (Ignacio *et al.*, 2014).

Συμπερασματικά, τα δεδομένα συγκλίνουν στο ότι η PAE προκαλεί δομικές και πιθανώς χρονοεξαρτώμενες λειτουργικές διαταραχές στην αμυγδαλή, με ανισορροπία μεταξύ γλουταμινεργικής και GABAεργικής διαβίβασης. Αυτές οι αλλαγές οδηγούν σε αυξημένη υπερδιεγερσιμότητα, συμβάλλοντας στην εμφάνιση αγχώδους και παρορμητικής συμπεριφοράς, καθώς και στην αυξημένη επιρρέπεια για επιληπτικές κρίσεις.

Προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη, επιληψία και αμυγδαλή

Η προγεννητική έκθεση στην αιθανόλη (PAE) έχει συνδεθεί με αυξημένη επίπτωση επιληπτικών κρίσεων και επιληψίας, τόσο σε ανθρώπους με Fetal Alcohol Spectrum Disorders (FASD) όσο και σε πειραματικά μοντέλα. Κεντρικό ρόλο σε αυτήν την νοσηρότητα φαίνεται να παίζει η αμυγδαλή, η οποία αποτελεί βασικό κόμβο των

κυκλωμάτων του μεταιχμιακού συστήματος που εμπλέκονται στη ρύθμιση της διέγερσης κατά την επιληπτογένεση. Μελέτες σε επίμυες έχουν δείξει ότι η PAE προκαλεί σημαντική μείωση της GABAεργικής αναστολής στον βασικό πυρήνα της αμυγδαλής (BLA), οδηγώντας σε υπερδιεγερσιμότητα και αυξημένη ευαισθησία σε ερεθίσματα που μπορούν να οδηγήσουν σε σπασμούς (Zhou *et al.*, 2010; Diaz *et al.*, 2014; Winchester and Diaz, 2025). Επιπλέον, όπως προαναφέρθηκε, μορφολογικές αλλαγές σε νευρώνες του βασικού πυρήνα της αμυγδαλής, οι οποίες συνίστανται σε αύξηση των δενδριτικών ακάνθων και μεταβολή της έντασης της χρώσης Nissl, έχουν συσχετιστεί με δυσλειτουργία της ανασταλτικής ρύθμισης και μεγαλύτερη πιθανότητα απορρύθμισης των νευρικών δικτύων (Cullen *et al.*, 2013; Kozanian *et al.*, 2018). Στον άνθρωπο, απεικονιστικές μελέτες καταδεικνύουν μικρότερο όγκο αμυγδαλής και διαταραγμένη συνδεσιμότητα της αμυγδαλής με τον ιππόκαμπο και τον προμετωπιαίο φλοιό σε παιδιά με PAE, γεγονός που παρέχει ένα πιθανό ανατομικό υπόστρωμα για την αυξημένη επιληπτική ευαλωτότητα (Roussotte *et al.*, 2012; Roeske *et al.*, 2025). Συνολικά, τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η αμυγδαλή αποτελεί σημαντική περιοχή του εγκεφάλου στην οποία η PAE προκαλεί νευροδιαβιβαστικές και δομικές μεταβολές, οι οποίες με τη σειρά τους μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο επιληπτικών κρίσεων.

Σεξουαλικός διμορφισμός στις επιδράσεις της PAE στην αμυγδαλή

Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία ότι υπάρχει σεξουαλικός διμορφισμός στην επίπτωση αγχώδων διαταραχών ως αποτέλεσμα της προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη. Πράγματι, σε μελέτη 25 ενηλίκων που διαγνώστηκαν με FASD ή που εκτέθηκαν προγεννητικά σε αιθανόλη βρέθηκε ότι το 50% των γυναικών παρουσίασαν αγχώδη διαταραχή έναντι 0% των ανδρών (Famy *et al.*, 1998). Παρόμοια με τα κλινικά ευρήματα, ευρήματα από προκλινικές μελέτες έδειξαν ότι θηλυκά πειραματόζωα που είχαν εκτεθεί προγεννητικά σε αιθανόλη παρουσίασαν βαρύτερα συμπτώματα συμπεριφοράς αγχώδους διαταραχής σε σχέση με τα αρσενικά σε δοκιμασίες συμπεριφοράς όπως ανυψωμένου λαβύρινθου (Osborn *et al.*, 1998) και εξαναγκασμένης κολύμβησης (Hellemans *et al.*, 2010), ενώ αρσενικά πειραματόζωα επέδειξαν μειωμένες αντιδράσεις σε ηδονικά ερεθίσματα και αυξημένη

κινητικότητα ανοιχτού πεδίου και κοινωνικής αλληλεπίδρασης σε σχέση με τα θηλυκά (Hellemans *et al.*, 2008, 2010). Πλέον των συμπεριφορικών μελετών, ο σεξουαλικός διμορφισμός έχει αναφερθεί και σε μελέτες που δείχνουν δομικές αλλαγές των πυραμιδικών νευρώνων του έξω-βασικού πυρήνα της αμυγδαλής μετά από έλεγχο τους στους 8 και 15 μήνες μετά τη γέννηση πειραματόζων που έχουν εκτεθεί σε ήπια συγκέντρωση (6% v/v) αιθανόλης καθ' όλη της διάρκειας της κύησης (Cullen *et al.*, 2013). Επιπλέον, μειωμένη GABAεργική διαβίβαση παρατηρήθηκε στην αμυγδαλή ~ 2 μήνες μετά τη γέννηση σε θηλυκούς, αλλά όχι σε αρσενικούς, επίμυες που είχαν εκτεθεί στην E12 σε 95% ατμό αιθανόλης (Winchester and Diaz, 2025).

Παρόλο που η παρούσα μελέτη περιλάμβανε αρσενικά και θηλυκά πειραματόζωα, ο χαμηλός αριθμός τους δεν επέτρεψε την συγκριτική τους μελέτη και επομένως δεν κατέστη δυνατόν να διερευνηθεί το ζήτημα του σεξουαλικού διμορφισμού.

Αξιοπιστία του μοντέλου PAE της παρούσας μελέτης

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ένα μοντέλο προγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη που υπερέχει άλλων μοντέλων που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία. Ένα σημαντικό στοιχείο του μοντέλου είναι ότι πρόκειται για μοντέλο που δεν είναι ιδιαίτερα επεμβατικό καθώς υπάρχει ελεύθερη πρόσβαση στην αλκοόλη σε αντίθεση με μοντέλα που χρησιμοποιούν τεχνητή εκτροφή (artificial rearing) (West *et al.*, 1986; Miller, 1995) ή γαστρική διασωλήνωση (intragastric intubation) (Maier and West, 2001; Livy *et al.*, 2003; Tran and Kelly, 2003b). Επιπλέον, το παρόν μοντέλο εξασφαλίζει τιμές BAC ικανές για την πρόκληση βλάβης στο έμβρυο. Προηγούμενες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η συνεχόμενη χορήγηση 10% και 20% v/v EtOH, δηλαδή συγκεντρώσεων αλκοόλης παρόμοιες με την παρούσα μελέτη (15% v/v), οδήγησε σε τιμές BAC ~120 mg/dl (Allan *et al.*, 2003; Patten *et al.*, 2014) και ~110 mg/dl (González-Burgos *et al.*, 2006), αντίστοιχα. Αυτές οι τιμές BAC είναι πολύ κοντά στον ουδό πρόκλησης τερατογένεσης (140 mg/dl) στον άνθρωπο (Tat-Ha, 1990) ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης 3-5 περίπου ποτών την ημέρα (Gohlke *et al.*, 2005). Συγκριτικά, η τιμή BAC που αντιστοιχεί σε κατανάλωση μιας μπύρας ή ενός ποτηριού κρασί υπολογίζεται σε 52 mg/dl και σχετίζεται με τον ουδό πρόκλησης βλάβης στο έμβρυο (Tat-Ha, 1990). Ένα άλλο πλεονέκτημα του παρόντος μοντέλου είναι ότι

μιμείται τη συμπεριφορά αλκοολικών γυναικών οι οποίες καταναλώνουν αλκοόλη πριν, κατά τη διάρκεια και μετά την εγκυμοσύνη. Επομένως, το παρόν μοντέλο είναι κατάλληλο για την μελέτη των αναπτυξιακών βλαβών του εγκεφάλου καθώς περιλαμβάνει όλες τις προ- και μεταγεννητικές χρονικές περιόδους της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος στα πειραματόζωα, οι οποίες αποτυπώνονται στα τρία τρίμηνα κύησης στον άνθρωπο (Romijn *et al.*, 1991). Επιπρόσθετα, πλέον της σχετικά ήπιας συγκέντρωσης αιθανόλης που χορηγήθηκε στο παρόν μοντέλο, η βαθμιαία αύξηση και απόσυρσή της εξασφάλισε αφενός την ομαλή κύηση των μητέρων και αφετέρου τον ασφαλή απογαλακτισμό των νεογνών (Romijn *et al.*, 1991).

Η συγκέντρωση αιθανόλης στο αίμα (Blood Alcohol Concentration, BAC) ως προγνωστικός δείκτης των επιδράσεων της στον εγκέφαλο

Είναι πλέον ευρέως γνωστό ότι οι επιδράσεις της έκθεσης στην αιθανόλη σχετίζονται στενά όχι μόνο με την χορηγηθείσα δόση, αλλά κυρίως με το πρότυπο χορήγησης. Έτσι, η ίδια δόση αλκοόλης μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο βλαπτική ανάλογα με το αν χορηγείται συνεχώς κατά τη διάρκεια της ημέρας (continuous administration), ή μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα (binge-like administration) (Bonthius and West, 1988a, 1990a). Έχει αναφερθεί ότι η δόση αλκοόλης 4,5 g/kg/ημέρα επιφέρει στην 10^η μεταγεννητική ημέρα σημαντική μείωση στον αριθμό των πυραμιδικών νευρώνων της περιοχής CA1 του ιπποκάμπου όταν χορηγηθεί σε διάστημα 4 ωρών, κατά το οποίο επιτυγχάνεται BAC 361,6 mg/dL, ενώ η ίδια δόση όταν χορηγηθεί σε διάστημα 8 ωρών, κατά το οποίο επιτυγχάνεται BAC 190,7 mg/dL, δεν επιφέρει καμία μεταβολή στον αριθμό των νευρώνων (Bonthius and West, 1990a). Παράλληλα, η χορήγηση διαφορετικών δόσεων αλκοόλης (4,5 g/kg/ημέρα έναντι 6,6 g/kg/ημέρα) και διαφορετικό πρότυπο χορήγησης (8ωρη έναντι συνεχόμενης χορήγησης, αντίστοιχα) η οποία όμως οδηγεί σε παρόμοια BAC (192,7 mg/dL έναντι 188,7 mg/dL, αντίστοιχα) επιφέρει παρόμοια μείωση στο βάρος του εγκεφάλου (Samson and Grant, 1984; Bonthius and West, 1988a). Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η BAC είναι καλύτερος προγνωστικός δείκτης των βλαπτικών επιδράσεων της αλκοόλης σε σχέση με την δόση. Αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ BAC και μείωσης του βάρους του εγκεφάλου σε πειραματόζωα (Tran *et al.*,

2000). Σημαντικό ρόλο στις βλαπτικές επιδράσεις της έκθεσης του εγκεφάλου στην αιθανόλη διαδραματίζει και η στέρηση κατά την απόσυρση από αυτή. Ωστόσο, έχει αναφερθεί ότι ακόμα και μετά την σταδιακή απόσυρση από την αιθανόλη οι βλαπτικές επιδράσεις της εμμένουν υποδηλώνοντας ότι η στέρηση δεν αποτελεί τον κύριο μηχανισμό της μικροκεφαλίας που συνδέεται με την κατανάλωση αιθανόλης (Bonthius and West, 1988b, 1990b).

Περιορισμοί της μελέτης

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει ορισμένους περιορισμούς:

1. Η μέτρηση της έντασης του σήματος των σωματιδίων Nissl περιορίστηκε σε τομή εγκεφάλου μικρού πάχους η οποία δεν επέτρεψε την εκτίμηση του σήματος σε μεγάλο βάθος εγκεφαλικής τομής. Βεβαίως, η κλασσική αυτή μέθοδος που εφαρμόστηκε σε δισδιάστατες εικόνες είναι ευρύτατα αποδεκτή. Ωστόσο, η πρόοδος στην νευροστερεολογία έχει εισάγει προχωρημένες μεθόδους οι οποίες επιτρέπουν την ακριβέστερη εκτίμηση κυτταρικών πληθυσμών καθώς βασίζεται σε τρισδιάστατα μοντέλα ιστού που προκύπτουν από δισδιάστατες εικόνες οπτικής ή συνεστιακής μικροσκοπίας (Golub *et al.*, 2015).
2. Δεν προσδιορίστηκε η συγκέντρωση της αιθανόλης (BAC) στο αίμα των πειραματόζωνων η οποία όπως προαναφέρθηκε είναι καλύτερος προγνωστικός δείκτης των επιδράσεων της αλκοόλης σε σχέση την χορηγούμενη δόση. Ωστόσο, η BAC μπορεί να εκτιμηθεί μετά από σύγκριση με προηγούμενες πειραματικές μελέτες σύμφωνα με τις οποίες συγκεντρώσεις αλκοόλης παρόμοιες με αυτές που χρησιμοποιήθηκαν την παρούσα μελέτη (15% v/v) παρουσιάζουν τιμές BAC ~120 mg/dl (Allan *et al.*, 2003; Patten *et al.*, 2014) και ~110 mg/dl (González-Burgos *et al.*, 2006) μετά από συνεχόμενη χορήγηση 10% και 20% v/v EtOH, αντίστοιχα.
3. Ο αριθμός των πειραματόζωνων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη ήταν μικρός και παρόλο που η παρούσα μελέτη περιλάμβανε αρσενικά και θηλυκά πειραματόζωα, δεν κατέστη δυνατή η διερεύνηση του σεξουαλικού διμορφισμού που υποστηρίζεται στη βιβλιογραφία (Famy *et al.*, 1998; Osborn *et al.*, 1998; Cullen *et al.*, 2013).

Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη παρέχει ενδείξεις ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στο αμυγδαλοειδές σώμα των επίμυων ως αποτέλεσμα της προγεννητικής και πρώιμης μεταγεννητικής έκθεσης στην αιθανόλη. Μικρή αλλά όχι στατιστικά σημαντική αύξηση παρουσίασαν ορισμένοι πυρήνες της αμυγδαλής στη χρώση Nissl δύο μήνες μετά την έκθεση στην αιθανόλη, όταν δηλαδή τα πειραματόζωα βρίσκονται ήδη σε νεαρή ηλικία, υποδηλώνοντας πιθανές μακροπρόθεσμες αλλαγές του εγκεφάλου. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την επιβεβαίωση των ευρημάτων και τη διερεύνηση του είδους των κυττάρων (νευρώνες έναντι γλοιακών κυττάρων) που πιθανώς να εμπλέκονται στην πιθανή αυτή αλλαγή ως αποτέλεσμα της έκθεσης στην αιθανόλη.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναμένεται να βοηθήσουν στην κατανόηση μηχανισμών οι οποίοι διέπουν τις βλαπτικές επιδράσεις της αιθανόλης που παρατηρούνται σε λειτουργίες της αμυγδαλής, όπως είναι η αγχώδης διαταραχή, καθώς και σε παθολογικές καταστάσεις στις οποίες εμπλέκεται η αμυγδαλή, όπως είναι η κατάθλιψη και η επιληψία του κροταφικού λοβού.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- AbuHasan Q, Reddy V, and Siddiqui W (2025) Neuroanatomy, Amygdala, in *StatPearls* p, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Aerts T, and Seuntjens E (2021) Novel Perspectives on the Development of the Amygdala in Rodents. *Front Neuroanat* **15**, Frontiers.
- Al Bazzal A, Mtairek MA, Awde MH, Kanso H, Hajj F, Al Amin F, Kazan Z, Mohammed NA, and Hamdar H (2025) Stress-related psychiatric disorders. *Prog Brain Res* **291**:161–173.
- Allan AM, Chynoweth J, Tyler LA, and Caldwell KK (2003) A mouse model of prenatal ethanol exposure using a voluntary drinking paradigm. *Alcohol Clin Exp Res* **27**:2009–2016.
- Almeida L, Andreu-Fernández V, Navarro-Tapia E, Aras-López R, Serra-Delgado M, Martínez L, García-Algar O, and Gómez-Roig MD (2020) Murine Models for the Study of Fetal Alcohol Spectrum Disorders: An Overview. *Front Pediatr* **8**:359.
- Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst A, Riley EP, Mattson SN, and Jernigan TL (2001) Brain dysmorphology in individuals with severe prenatal alcohol exposure. *Dev Med Child Neurol* **43**:148–154.
- Astley SJ, Aylward EH, Olson HC, Kerns K, Brooks A, Coggins TE, Davies J, Dorn S, Gendler B, Jirikowic T, Kraegel P, Maravilla K, and Richards T (2009) Magnetic resonance imaging outcomes from a comprehensive magnetic resonance study of children with fetal alcohol spectrum disorders. *Alcohol Clin Exp Res* **33**:1671–1689.
- Autti-Rämö I (2002) Foetal alcohol syndrome--a multifaceted condition. *Dev Med Child Neurol* **44**:141–144.
- Autti-Rämö I, Autti T, Korkman M, Kettunen S, Salonen O, and Valanne L (2002) MRI findings in children with school problems who had been exposed prenatally to alcohol. *Dev Med Child Neurol* **44**:98–106.
- Babaev O, Piletti Chatain C, and Krueger-Burg D (2018) Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. *Exp Mol Med* **50**:1–16.
- Baculis BC, Diaz MR, and Valenzuela CF (2015) Third trimester-equivalent ethanol exposure increases anxiety-like behavior and glutamatergic transmission in the basolateral amygdala. *Pharmacol Biochem Behav* **137**:78–85.
- Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, and La Vecchia C (2015) Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. *Br J Cancer* **112**:580–593.
- Bakhireva LN, and Savage DD (2011) Focus on: biomarkers of fetal alcohol exposure and fetal alcohol effects. *Alcohol Res Health* **34**:56–63.

- Bala Ganesh KSVA, Panda P, H. Makwana A, Gopalakrishna PK, Prameela Rani K, and Vishnumukkala T (2024) Unraveling the amygdala: A review of its anatomy and functions. *Bioinformation* **20**:1588–1592.
- Balaszczuk V, Bender C, Pereno GL, and Beltramino CA (2011) Alcohol-induced neuronal death in central extended amygdala and pyriform cortex during the postnatal period of the rat. *Int J Dev Neurosci* **29**:733–742.
- Banwinkler M, Theis H, Prange S, and van Eimeren T (2022) Imaging the Limbic System in Parkinson's Disease—A Review of Limbic Pathology and Clinical Symptoms. *Brain Sci* **12**:1248.
- Benarroch EE (2015) The amygdala: Functional organization and involvement in neurologic disorders. *Neurology* **84**:313–324.
- Bode C, and Bode JC (2003) Effect of alcohol consumption on the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* **17**:575–592.
- Bonthius DJ, and West JR (1990a) Alcohol-induced neuronal loss in developing rats: increased brain damage with binge exposure. *Alcohol Clin Exp Res* **14**:107–118.
- Bonthius DJ, and West JR (1990b) Alcohol-induced neuronal loss in developing rats: increased brain damage with binge exposure. *Alcohol Clin Exp Res* **14**:107–118.
- Bonthius DJ, and West JR (1988a) Blood alcohol concentration and microencephaly: a dose-response study in the neonatal rat. *Teratology* **37**:223–231.
- Bonthius DJ, and West JR (1988b) Blood alcohol concentration and microencephaly: a dose-response study in the neonatal rat. *Teratology* **37**:223–231.
- Brady S, Colman DR, and Brophy P (2014) Chapter 2 - Subcellular Organization of the Nervous System: Organelles and Their Functions, in *From Molecules to Networks (Third Edition)* (Byrne JH, Heidelberger R, and Waxham MN eds) pp 23–52, Academic Press, Boston.
- Brien SE, Ronksley PE, Turner BJ, Mukamal KJ, and Ghali WA (2011) Effect of alcohol consumption on biological markers associated with risk of coronary heart disease: systematic review and meta-analysis of interventional studies. *BMJ* **342**:d636–d636.
- Carter RC, Senekal M, Dodge NC, Bechard LJ, Meintjes EM, Molteno CD, Duggan CP, Jacobson JL, and Jacobson SW (2017) Maternal Alcohol Use and Nutrition During Pregnancy: Diet and Anthropometry. *Alcohol Clin Exp Res* **41**:2114–2127.
- Chaudhury D, Liu H, and Han M-H (2015) Neuronal correlates of depression. *Cell Mol Life Sci* **72**:4825–4848.
- Chauhan P, Philip SE, Chauhan G, and Mehra S (2022) The Anatomical Basis of Seizures, in *Epilepsy* (Czuczwar SJ ed) p, Exon Publications, Brisbane (AU).

- Choi IY, Allan AM, and Cunningham LA (2005) Moderate fetal alcohol exposure impairs the neurogenic response to an enriched environment in adult mice. *Alcohol Clin Exp Res* **29**:2053–2062.
- Cronise K, Marino MD, Tran TD, and Kelly SJ (2001) Critical periods for the effects of alcohol exposure on learning in rats. *Behav Neurosci* **115**:138–145.
- Cullen CL, Burne THJ, Lavidis NA, and Moritz KM (2013) Low dose prenatal ethanol exposure induces anxiety-like behaviour and alters dendritic morphology in the basolateral amygdala of rat offspring. *PLoS One* **8**:e54924.
- Das JM, and Siddiqui W (2025) Kluver-Bucy Syndrome, in *StatPearls p*, StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Davis LL, and Hamner MB (2024) Post-traumatic stress disorder: the role of the amygdala and potential therapeutic interventions – a review. *Front Psychiatry* **15**, Frontiers.
- Davis M, and Whalen PJ (2001) The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry* **6**:13–34.
- de Olmos S, Beltramino C, and Alheid G (2004) Amygdala and Extended Amygdala of the Rat: Cytoarchitectonical, Fibroarchitectonical, and Chemoarchitectonical Survey. *The Rat Nervous System* 509–603.
- Deitrich RA, Dunwiddie TV, Harris RA, and Erwin VG (1989) Mechanism of action of ethanol: initial central nervous system actions. *Pharmacol Rev* **41**:489–537.
- Diaz MR, Jotty K, Locke JL, Jones SR, and Valenzuela CF (2014) Moderate Alcohol Exposure during the Rat Equivalent to the Third Trimester of Human Pregnancy Alters Regulation of GABAA Receptor-Mediated Synaptic Transmission by Dopamine in the Basolateral Amygdala. *Front Pediatr* **2**.
- Dodge NC, Thomas KGF, Meintjes EM, Molteno CD, Jacobson JL, and Jacobson SW (2020) Reduced Hippocampal Volumes Partially Mediate Effects of Prenatal Alcohol Exposure on Spatial Navigation on a Virtual Water Maze Task in Children. *Alcohol Clin Exp Res* **44**:844–855.
- Du Y, Zhang S, Qiu Q, Fang Y, Zhao L, Yue L, Wang J, Yan F, and Li X (2024) The mediating effect of the amygdala-frontal circuit on the association between depressive symptoms and cognitive function in Alzheimer’s disease. *Transl Psychiatry* **14**:301, Nature Publishing Group.
- Dudek I, Hajduga D, Sierńko C, Maani A, Sitarz E, Sitarz M, and Forma A (2020) Alcohol-Induced Neuropathy in Chronic Alcoholism: Causes, Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment Options. *Curr Pathobiol Rep* **8**:87–97.
- Eckardt MJ, File SE, Gessa GL, Grant KA, Guerri C, Hoffman PL, Kalant H, Koob GF, Li TK, and Tabakoff B (1998) Effects of moderate alcohol consumption on the central nervous system. *Alcohol Clin Exp Res* **22**:998–1040.

- Egervari G, Siciliano CA, Whiteley EL, and Ron D (2021) Alcohol and the brain: from genes to circuits. *Trends Neurosci* **44**:1004–1015.
- Famy C, Streissguth AP, and Unis AS (1998) Mental illness in adults with fetal alcohol syndrome or fetal alcohol effects. *Am J Psychiatry* **155**:552–554.
- Feichtinger M, Pauli E, Schäfer I, Eberhardt KW, Tomandl B, Huk J, and Stefan H (2001) Ictal Fear in Temporal Lobe Epilepsy: Surgical Outcome and Focal Hippocampal Changes Revealed by Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Imaging. *Arch Neurol* **58**:771–777.
- Giglia RC, and Binns CW (2008) Alcohol, pregnancy and breastfeeding; a comparison of the 1995 and 2001 National Health Survey data. *Breastfeed Rev* **16**:17–24.
- Gil-Mohapel J, Boehme F, Kainer L, and Christie BR (2010) Hippocampal cell loss and neurogenesis after fetal alcohol exposure: insights from different rodent models. *Brain Res Rev* **64**:283–303.
- Gohlke JM, Griffith WC, and Faustman EM (2005) A systems-based computational model for dose-response comparisons of two mode of action hypotheses for ethanol-induced neurodevelopmental toxicity. *Toxicol Sci* **86**:470–484.
- Golub VM, Brewer J, Wu X, Kuruba R, Short J, Manchi M, Swonke M, Younus I, and Reddy DS (2015) Neurostereology protocol for unbiased quantification of neuronal injury and neurodegeneration. *Front Aging Neurosci* **7**:196.
- González-Burgos I, Alexandre-Gómez M, Olvera-Cortés ME, Pérez-Vega MI, Evans S, and Feria-Velasco A (2006) Prenatal-through-postnatal exposure to moderate levels of ethanol leads to damage on the hippocampal CA1 field of juvenile rats: a stereology and Golgi study. *Neurosci Res* **56**:400–408.
- Gonzalez-Rodriguez M, Villar-Conde S, Astillero-Lopez V, Villanueva-Anguita P, Ubeda-Banon I, Flores-Cuadrado A, Martinez-Marcos A, and Saiz-Sanchez D (2023) Human amygdala involvement in Alzheimer's disease revealed by stereological and dia-PASEF analysis. *Brain Pathol* **33**:e13180.
- Goodlett CR, and Horn KH (2001) Mechanisms of Alcohol-Induced Damage to the Developing Nervous System. *Alcohol Res Health* **25**:175–184.
- Guadagno A, Belliveau C, Mechawar N, and Walker C-D (2021) Effects of Early Life Stress on the Developing Basolateral Amygdala-Prefrontal Cortex Circuit: The Emerging Role of Local Inhibition and Perineuronal Nets. *Front Hum Neurosci* **15**:669120.
- Hamby-Mason R, Chen JJ, Schenker S, Perez A, and Henderson GI (1997) Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain. *Alcohol Clin Exp Res* **21**:1063–1072.
- Harnett NG, Goodman AM, and Knight DC (2020) PTSD-related neuroimaging abnormalities in brain function, structure, and biochemistry. *Exp Neurol* **330**:113331.

- Harper C (2009) The neuropathology of alcohol-related brain damage. *Alcohol Alcohol* **44**:136–140.
- Harris RA, McQuilkin SJ, Paylor R, Abeliovich A, Tonegawa S, and Wehner JM (1995) Mutant mice lacking the gamma isoform of protein kinase C show decreased behavioral actions of ethanol and altered function of gamma-aminobutyrate type A receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**:3658–3662.
- Heit C, Dong H, Chen Y, Thompson DC, Deitrich RA, and Vasiliou VK (2013) The role of CYP2E1 in alcohol metabolism and sensitivity in the central nervous system. *Subcell Biochem* **67**:235–247.
- Hellemans KGC, Verma P, Yoon E, Yu W, and Weinberg J (2008) Prenatal alcohol exposure increases vulnerability to stress and anxiety-like disorders in adulthood. *Ann N Y Acad Sci* **1144**:154–175.
- Hellemans KGC, Verma P, Yoon E, Yu WK, Young AH, and Weinberg J (2010) Prenatal alcohol exposure and chronic mild stress differentially alter depressive- and anxiety-like behaviors in male and female offspring. *Alcohol Clin Exp Res* **34**:633–645.
- Ho NF, Li Hui Chong P, Lee DR, Chew QH, Chen G, and Sim K (2019) The Amygdala in Schizophrenia and Bipolar Disorder: A Synthesis of Structural MRI, Diffusion Tensor Imaging, and Resting-State Functional Connectivity Findings. *Harv Rev Psychiatry* **27**:150–164.
- Horsager J, and Borghammer P (2024) Brain-first vs. body-first Parkinson’s disease: An update on recent evidence. *Parkinsonism Relat Disord* **122**:106101.
- Hur J, Stockbridge MD, Fox AS, and Shackman AJ (2019) Dispositional negativity, cognition, and anxiety disorders: An integrative translational neuroscience framework, in *Progress in Brain Research* pp 375–436, Elsevier.
- Hyun J, Han J, Lee C, Yoon M, and Jung Y (2021) Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci* **22**:5717.
- Ignacio C, Mooney SM, and Middleton FA (2014) Effects of Acute Prenatal Exposure to Ethanol on microRNA Expression are Ameliorated by Social Enrichment. *Front Pediatr* **2**, Frontiers.
- Janak PH, and Tye KM (2015) From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature* **517**:284–292.
- Janku C, Engel PV, Patel K, and Giraldo E (n.d.) The 100 Most Cited Kluver-Bucy Research Articles: A Bibliometric Analysis. *Cureus* **15**:e45382.
- Jung Y-H, Shin JE, Lee YI, Jang JH, Jo HJ, and Choi S-H (2018) Altered Amygdala Resting-State Functional Connectivity and Hemispheric Asymmetry in Patients With Social Anxiety Disorder. *Front Psychiatry* **9**, Frontiers.
- Kamali A, Milosavljevic S, Gandhi A, Lano KR, Shobeiri P, Sherbaf FG, Sair HI, Riascos RF, and Hasan KM (2023) The Cortico-Limbo-Thalamo-Cortical Circuits: An Update to the Original Papez Circuit of the Human Limbic System. *Brain Topogr* **36**:371–389.

- Katzung B, and Trevor A (2021) Basic & Clinical Pharmacology, 15e | AccessMedicine | McGraw Hill Medical.
- Kelly SJ, and Lawrence RC (2008) Intragastric Intubation of Alcohol During the Perinatal Period. *Methods Mol Biol* **447**:101–110.
- Klatsky AL (2015) Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? *J Intern Med* **278**:238–250.
- Kolesar TA, Bilevicius E, Wilson AD, and Kornelsen J (2019) Systematic review and meta-analyses of neural structural and functional differences in generalized anxiety disorder and healthy controls using magnetic resonance imaging. *Neuroimage Clin* **24**:102016.
- Koob GF, and Volkow ND (2016) Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The Lancet Psychiatry* **3**:760–773.
- Kozanian OO, Rohac DJ, Bavadian N, Corches A, Korzus E, and Huffman KJ (2018) Long-Lasting Effects of Prenatal Ethanol Exposure on Fear Learning and Development of the Amygdala. *Front Behav Neurosci* **12**, Frontiers.
- Lebel C, Roussotte F, and Sowell ER (2011) Imaging the Impact of Prenatal Alcohol Exposure on the Structure of the Developing Human Brain. *Neuropsychol Rev* **21**:102–118.
- LeDoux JE (2000) Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* **23**:155–184.
- Leichsenring F, Fonagy P, Heim N, Kernberg OF, Leweke F, Luyten P, Salzer S, Spitzer C, and Steinert C (2024) Borderline personality disorder: a comprehensive review of diagnosis and clinical presentation, etiology, treatment, and current controversies. *World Psychiatry* **23**:4–25.
- Lischinsky JE, Sokolowski K, Li P, Esumi S, Kamal Y, Goodrich M, Oboti L, Hammond TR, Krishnamoorthy M, Feldman D, Huntsman M, Liu J, and Corbin JG (2017) Embryonic transcription factor expression in mice predicts medial amygdala neuronal identity and sex-specific responses to innate behavioral cues. *eLife* **6**:e21012, eLife Sciences Publications, Ltd.
- Livy DJ, Miller EK, Maier SE, and West JR (2003) Fetal alcohol exposure and temporal vulnerability: effects of binge-like alcohol exposure on the developing rat hippocampus. *Neurotoxicol Teratol* **25**:447–458.
- Maier SE, and West JR (2001) Regional differences in cell loss associated with binge-like alcohol exposure during the first two trimesters equivalent in the rat. *Alcohol* **23**:49–57.
- Maldonado R, Cabañero D, and Martín-García E (2020) The endocannabinoid system in modulating fear, anxiety, and stress. *Dialogues Clin Neurosci* **22**:229–239.
- Mandal C, Halder D, Jung KH, and Chai YG (2017) In Utero Alcohol Exposure and the Alteration of Histone Marks in the Developing Fetus: An Epigenetic Phenomenon of Maternal Drinking. *Int J Biol Sci* **13**:1100–1108.

- Masneuf S, Lowery-Gionta E, Colacicco G, Pleil KE, Li C, Crowley N, Flynn S, Holmes A, and Kash T (2014) Glutamatergic mechanisms associated with stress-induced amygdala excitability and anxiety-related behavior. *Neuropharmacology* **85**:190–197.
- Mattson SN, Riley EP, Sowell ER, Jernigan TL, Sobel DF, and Jones KL (1996) A decrease in the size of the basal ganglia in children with fetal alcohol syndrome. *Alcohol Clin Exp Res* **20**:1088–1093.
- May PA, and Gossage JP (2011) Maternal risk factors for fetal alcohol spectrum disorders: not as simple as it might seem. *Alcohol Res Health* **34**:15–26.
- May PA, Hamrick KJ, Corbin KD, Hasken JM, Marais A-S, Brooke LE, Blankenship J, Hoyme HE, and Gossage JP (2014) Dietary intake, nutrition, and fetal alcohol spectrum disorders in the Western Cape Province of South Africa. *Reprod Toxicol* **46**:31–39.
- McDonald AJ (1998) Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol* **55**:257–332.
- McLachlan RS (2009) A brief review of the anatomy and physiology of the limbic system. *Can J Neurol Sci* **36 Suppl 2**:S84-87.
- Medina L, Abellán A, Morales L, Pross A, Metwalli AH, González-Alonso A, Freixes J, and Desfilis E (2023) Evolution and Development of Amygdala Subdivisions: Pallial, Subpallial, and Beyond. *Brain Behav Evol* **98**:1–21.
- Miller MW (1995) Generation of neurons in the rat dentate gyrus and hippocampus: effects of prenatal and postnatal treatment with ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* **19**:1500–1509.
- Mira RG, Lira M, Tapia-Rojas C, Rebolledo DL, Quintanilla RA, and Cerpa W (2019) Effect of Alcohol on Hippocampal-Dependent Plasticity and Behavior: Role of Glutamatergic Synaptic Transmission. *Front Behav Neurosci* **13**:288.
- Mohammadi S, Haghiri H, Fazel AR, and Vafaei A (2013) Analysis of Amygdala Nucleus in the Rat Brain: A review study. *Electron Physician* **5**:639–642.
- Mulc D, Smilović D, Krsnik Ž, Junaković-Munjas A, Kopic J, Kostović I, Šimić G, and Vukšić M (2024) Fetal development of the human amygdala. *J Comp Neurol* **532**:e25580.
- Munson J, Dawson G, Abbott R, Faja S, Webb SJ, Friedman SD, Shaw D, Artru A, and Dager SR (2006) Amygdalar Volume and Behavioral Development in Autism. *Arch Gen Psychiatry* **63**:686–693.
- Nardelli A, Lebel C, Rasmussen C, Andrew G, and Beaulieu C (2011a) Extensive Deep Gray Matter Volume Reductions in Children and Adolescents with Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **35**:1404–1417.
- Nardelli A, Lebel C, Rasmussen C, Andrew G, and Beaulieu C (2011b) Extensive Deep Gray Matter Volume Reductions in Children and Adolescents with Fetal Alcohol Spectrum Disorders: REDUCED DEEP GRAY MATTER VOLUME IN FASD. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* no-no.

- Olucha-Bordonau FE, Fortes-Marco L, Otero-García M, Lanuza E, and Martínez-García F (2015) Amygdala, in *The Rat Nervous System* pp 441–490, Elsevier.
- Osborn JA, Kim CK, Steiger J, and Weinberg J (1998) Prenatal ethanol exposure differentially alters behavior in males and females on the elevated plus maze. *Alcohol Clin Exp Res* **22**:685–696.
- Pa M, Jp G, Wo K, Lk R, D B, M M, and He H (2009) Prevalence and epidemiologic characteristics of FASD from various research methods with an emphasis on recent in-school studies. *Developmental disabilities research reviews* **15**.
- Padulo C, Sestieri C, Punzi M, Picerni E, Chiacchiaretta P, Tullo MG, Granzotto A, Baldassarre A, Onofrj M, Ferretti A, Delli Pizzi S, Sensi SL, and Iniziative for the ADN (2023) Atrophy of specific amygdala subfields in subjects converting to mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* **9**:e12436.
- Paré D, Pape HC, and Dong J (1995) Bursting and oscillating neurons of the cat basolateral amygdaloid complex in vivo: electrophysiological properties and morphological features. *J Neurophysiol* **74**:1179–1191.
- Patra J, Bakker R, Irving H, Jaddoe VWV, Malini S, and Rehm J (2011) Dose-response relationship between alcohol consumption before and during pregnancy and the risks of low birthweight, preterm birth and small for gestational age (SGA)-a systematic review and meta-analyses. *BJOG* **118**:1411–1421.
- Patten AR, Fontaine CJ, and Christie BR (2014) A comparison of the different animal models of fetal alcohol spectrum disorders and their use in studying complex behaviors. *Front Pediatr* **2**:93.
- Pitkänen A, Savander V, and LeDoux JE (1997) Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci* **20**:517–523.
- Popova S, Charness ME, Burd L, Crawford A, Hoyme HE, Mukherjee RAS, Riley EP, and Elliott EJ (2023) Fetal alcohol spectrum disorders. *Nat Rev Dis Primers* **9**:11, Nature Publishing Group.
- Popova S, Lange S, Probst C, Gmel G, and Rehm J (2017) Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* **5**:e290–e299.
- Principles of Neural Science, Sixth Edition (n.d.).
- Qiu A, Anh TT, Li Y, Chen H, Rifkin-Graboi A, Broekman BFP, Kwek K, Saw S-M, Chong Y-S, Gluckman PD, Fortier MV, and Meaney MJ (2015) Prenatal maternal depression alters amygdala functional connectivity in 6-month-old infants. *Transl Psychiatry* **5**:e508–e508, Nature Publishing Group.

- Quertemont E (2004) Genetic polymorphism in ethanol metabolism: acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Mol Psychiatry* **9**:570–581.
- Rainnie DG, Asprodini EK, and Shinnick-Gallagher P (1993) Intracellular recordings from morphologically identified neurons of the basolateral amygdala. *J Neurophysiol* **69**:1350–1362.
- Remedios R, Huilgol D, Saha B, Hari P, Bhatnagar L, Kowalczyk T, Hevner RF, Suda Y, Aizawa S, Ohshima T, Stoykova A, and Tole S (2007) A stream of cells migrating from the caudal telencephalon reveals a link between the amygdala and neocortex. *Nat Neurosci* **10**:1141–1150.
- Rice D, and Barone S (2000) Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect* **108**:511–533.
- Rich AM, Cho YT, Tang Y, Savic A, Krystal JH, Wang F, Xu K, and Anticevic A (2016) Amygdala volume is reduced in early course schizophrenia. *Psychiatry Res* **250**:50–60.
- Riikonen R, Salonen I, Partanen K, and Verho S (1999) Brain perfusion SPECT and MRI in foetal alcohol syndrome. *Developmental Medicine & Child Neurology* **41**:652–659.
- Riikonen RS, Nokelainen P, Valkonen K, Kolehmainen AI, Kumpulainen KI, Könönen M, Vanninen R-LS, and Kuikka JT (2005) Deep serotonergic and dopaminergic structures in fetal alcoholic syndrome: a study with nor-beta-CIT-single-photon emission computed tomography and magnetic resonance imaging volumetry. *Biol Psychiatry* **57**:1565–1572.
- Roeske J, Long X, Perdue MV, Long M, Geeraert B, Ghasoub M, Yeates KO, McMorris CA, Pei J, Ben Gibbard W, Tortorelli C, and Lebel C (2025) Amygdala and prefrontal cortex maturational differences in children and adolescents with prenatal alcohol exposure. *Biological Psychiatry: Cognitive Neuroscience and Neuroimaging*, doi: 10.1016/j.bpsc.2025.08.016.
- Rolls ET (2015) Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex* **62**:119–157.
- Romijn HJ, Hofman MA, and Gramsbergen A (1991) At what age is the developing cerebral cortex of the rat comparable to that of the full-term newborn human baby? *Early Hum Dev* **26**:61–67.
- Root CM, Denny CA, Hen R, and Axel R (2014) The participation of cortical amygdala in innate, odour-driven behaviour. *Nature* **515**:269–273.
- Roussotte FF, Sulik KK, Mattson SN, Riley EP, Jones KL, Adnams CM, May PA, O'Connor MJ, Narr KL, and Sowell ER (2012) Regional brain volume reductions relate to facial dysmorphology and neurocognitive function in fetal alcohol spectrum disorders. *Human Brain Mapping* **33**:920–937.
- Saavedra-Molina A, Riveros-Rosas H, Julián-Sánchez A, Montoya-Pérez R, and Noriega-Cisneros R (2016) Alcohol and the liver: Role of mitochondria, in *Alcohol and the Liver* pp 119–158.

- Sah P, Faber ESL, Lopez De Armentia M, and Power J (2003) The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiol Rev* **83**:803–834.
- Samson HH, and Grant KA (1984) Ethanol-induced microcephaly in neonatal rats: relation to dose. *Alcohol Clin Exp Res* **8**:201–203.
- Samson HH, and Harris RA (1992) Neurobiology of alcohol abuse. *Trends Pharmacol Sci* **13**:206–211.
- Schambra UB, Goldsmith J, Nunley K, Liu Y, Harirforoosh S, and Schambra HM (2015) Low and moderate prenatal ethanol exposures of mice during gastrulation or neurulation delays neurobehavioral development. *Neurotoxicol Teratol* **51**:1–11.
- Schambra UB, Lewis CN, and Harrison TA (2017) Deficits in spatial learning and memory in adult mice following acute, low or moderate levels of prenatal ethanol exposure during gastrulation or neurulation. *Neurotoxicol Teratol* **62**:42–54.
- Sechi G, and Serra A (2007) Wernicke's encephalopathy: new clinical settings and recent advances in diagnosis and management. *The Lancet Neurology* **6**:442–455.
- Sengoku R (2020) Aging and Alzheimer's disease pathology. *Neuropathology* **40**:22–29.
- Sengupta P (2013) The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. *International Journal of Preventive Medicine* **4**:7.
- Shackman AJ, and Fox AS (2016) Contributions of the Central Extended Amygdala to Fear and Anxiety. *J Neurosci* **36**:8050–8063.
- Shield KD, Parry C, and Rehm J (2014) Chronic Diseases and Conditions Related to Alcohol Use. *Alcohol Res* **35**:155–171.
- Shin LM, and Liberzon I (2010) The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology* **35**:169–191.
- Shylaja S, M S, Srilatha T, O V R, Reddy S, and Vamshi R (2019) Natural Alternative to D.P.X (Mounting Medium) - Comparison between Honey and Castor Oil. *IJCMR* **6**.
- Šimić G, Tkalčić M, Vukić V, Mulc D, Španić E, Šagud M, Olucha-Bordonau FE, Vukšić M, and R. Hof P (2021a) Understanding Emotions: Origins and Roles of the Amygdala. *Biomolecules* **11**:823, Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Šimić G, Tkalčić M, Vukić V, Mulc D, Španić E, Šagud M, Olucha-Bordonau FE, Vukšić M, and R. Hof P (2021b) Understanding Emotions: Origins and Roles of the Amygdala. *Biomolecules* **11**:823.
- Singal AK, Bataller R, Ahn J, Kamath PS, and Shah VH (2018) ACG Clinical Guideline: Alcoholic Liver Disease. *American Journal of Gastroenterology* **113**:175–194.

- Stouffer KM, Grande X, Düzel E, Johansson M, Creese B, Witter MP, Miller MI, Wisse LEM, and Berron D (2024) Amidst an amygdala renaissance in Alzheimer's disease. *Brain* **147**:816–829.
- Szabo G, and Saha B (2015) Alcohol's Effect on Host Defense. *Alcohol Res* **37**:159–170.
- Tan CH, Denny CH, Cheal NE, Snizek JE, and Kanny D (2015) Alcohol use and binge drinking among women of childbearing age - United States, 2011-2013. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **64**:1042–1046.
- Tat-Ha C (1990) [alcohol and pregnancy: what is the level of risk?]. *J Toxicol Clin Exp* **10**:105–114.
- The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* (2006).
- Tottenham N (2009) A review of adversity, the amygdala and the hippocampus: a consideration of developmental timing. *Front Hum Neurosci*, doi: 10.3389/neuro.09.068.2009.
- Tran TD, Cronise K, Marino MD, Jenkins WJ, and Kelly SJ (2000) Critical periods for the effects of alcohol exposure on brain weight, body weight, activity and investigation. *Behav Brain Res* **116**:99–110.
- Tran TD, and Kelly SJ (2003a) Critical periods for ethanol-induced cell loss in the hippocampal formation. *Neurotoxicol Teratol* **25**:519–528.
- Tran TD, and Kelly SJ (2003b) Critical periods for ethanol-induced cell loss in the hippocampal formation. *Neurotoxicol Teratol* **25**:519–528.
- Valenzuela CF, Morton RA, Diaz MR, and Topper L (2012) Does moderate drinking harm the fetal brain? Insights from animal models. *Trends Neurosci* **35**:284–292.
- Van Thiel DH, Gavalier JS, Rosenblum E, and Eagon PK (1987) Effects of Ethanol on Endocrine Cells: Testicular Effects. *Annals of the New York Academy of Sciences* **492**:287–302.
- Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, and Spanagel R (2008) Neuropharmacology of alcohol addiction. *Br J Pharmacol* **154**:299–315.
- Waddell J, McKenna MC, and Kristian T (2022) Brain ethanol metabolism and mitochondria. *Curr Top Biochem Res* **23**:1–13.
- Wen W, Li H, and Luo J (2022) Potential Role of MANF, an ER Stress Responsive Neurotrophic Factor, in Protecting Against Alcohol Neurotoxicity. *Mol Neurobiol* **59**:2992–3015.
- West JR, Hamre KM, and Cassell MD (1986) Effects of ethanol exposure during the third trimester equivalent on neuron number in rat hippocampus and dentate gyrus. *Alcohol Clin Exp Res* **10**:190–197.
- Weyrauch D, Schwartz M, Hart B, Klug MG, and Burd L (2017) Comorbid Mental Disorders in Fetal Alcohol Spectrum Disorders: A Systematic Review. *J Dev Behav Pediatr* **38**:283–291.

- Winchester SE, and Diaz MR (2025) Moderate prenatal alcohol exposure alters GABAergic transmission and the actions of acute alcohol in the medial central amygdala of adolescent rats. *Neuropharmacology* **266**:110283.
- Wozniak JR, Riley EP, and Charness ME (2019) Clinical presentation, diagnosis, and management of fetal alcohol spectrum disorder. *The Lancet Neurology* **18**:760–770, Elsevier.
- Yadav D, and Lowenfels AB (2013) The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. *Gastroenterology* **144**:1252–1261.
- Yao S, Bergan J, Lanjuin A, and Dulac C (n.d.) Oxytocin signaling in the medial amygdala is required for sex discrimination of social cues. *eLife* **6**:e31373.
- Yu B, Zhang Q, Lin L, Zhou X, Ma W, Wen S, Li C, Wang W, Wu Q, Wang X, and Li X-M (2023) Molecular and cellular evolution of the amygdala across species analyzed by single-nucleus transcriptome profiling. *Cell Discov* **9**:19, Nature Publishing Group.
- Zakhari S (2013) Alcohol Metabolism and Epigenetics Changes. *Alcohol Res* **35**:6–16.
- Zhou R, Wang S, and Zhu X (2010) Prenatal ethanol exposure attenuates GABAergic inhibition in basolateral amygdala leading to neuronal hyperexcitability and anxiety-like behavior of adult rat offspring. *Neuroscience* **170**:749–757.
- Zimatkin SM, and Deitrich RA (1997) Ethanol metabolism in the brain. *Addict Biol* **2**:387–400.
- Zimatkin SM, Pronko SP, Vasiliou V, Gonzalez FJ, and Deitrich RA (2006) Enzymatic mechanisms of ethanol oxidation in the brain. *Alcohol Clin Exp Res* **30**:1500–1505.