

Univerzita Karlova  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra farmakologie a toxikologie



## **Vliv antidepresiv na placentární homeostázu monoaminů**

Disertační práce

Mgr. Hana Horáčková

Školitel: prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

Hradec Králové 2023

*Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně pod vedením svého školitele prof. PharmDr. Františka Štauda, Ph.D. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.*

V Hradci Králové

Mgr. Hana Horáčková

Dne .....

## PODĚKOVÁNÍ

---

Ráda bych v první řadě poděkovala svému školiteli prof. PharmDr. Františku Štaudovi, Ph.D. za to, že jsem mohla být jeho doktorandkou. Pan profesor mi poskytl nespočet cenných odborných rad, díky kterým mě naučil vědeckému a kritickému myšlení, a ukázal mi, jak vypadá kvalitní věda. Vždy se mě snažil podpořit v mých nápadech a v mém nadšení. Zpětně si vážím veškerých chvil, kdy byl ke mně spravedlivě kritický. Bez energie vložené do mě bych nyní nebyla vědcem, kterým jsem. Také bych mu chtěla poděkovat, že ve správných chvílích byl přítelem a vytvořil tak společné vzpomínky mimo laboratoř, na které budu vždy s radostí vzpomínat.

V další řadě bych chtěla poděkovat všem členům vědecké skupiny Placenta in Health and Disease, protože veškeré dosažené výsledky byly kolektivní snahou a úspěchem. Také jsem vděčná za všechny chvíle, které jsme společně strávili mimo laboratoř. Konkrétně bych chtěla poděkovat mým dvěma kolegyním PharmDr. Roně Karahodě, Ph.D. a Dr. Cilií Abad, Ph.D. Nedokážu dostatečně vyjádřit svou vděčnost za všechny vaše rady a veškerou pomoc během mého doktorandského studia. Vždy jste si na mě našly čas a předaly mi veškeré znalosti, které jste mohly. V průběhu let jste se staly mými blízkými přítelkyněmi a každodenně strávený čas v laboratoři se stal časem stráveným v kamarádském kolektivu. Díky vám mé vědecké nadšení nikdy nezaniklo, ale stále rostlo. Díky vám jsem zažila nejrůznější situace, které by mě nikdy nenapadly, a získala jsem tak mnoho zkušeností. Navždy mi budete nesmírně drahé.

Dále je pro mě velmi důležité poděkovat všem kolegům, se kterými jsem měla možnost spolupracovat. A to v první řadě panu doktoru Jaroslavu Stráníkovi, Ph.D., paní docentce MUDr. Ivaně Kacerovské Musilové, Ph.D. a panu docentovi PharmDr. Martinu Štěrbovi, Ph.D. Bez jejich pomoci bychom nezískali cenné výsledky naměřené Dopplerovskou ultrasonografií. Dále velké poděkování patří panu profesorovi MUDr. Marianovi Kacerovskému, Ph.D. a paní Martině Hudečkové z Porodnické a gynekologické kliniky Fakultní nemocnice v Hradci Králové, bez jejichž vědeckého nadšení bychom neměli přístup ke klinickým vzorkům placent. Nesmím zapomenout na mé drahé kolegyně Danu Součkovou a Renatu Kilevníkovou, se kterými jsem strávila opravdu hodně času nad perfuzemi potkaní placenty. Děkuji za vaše excelentní technické znalosti metody a veškerý příjemný čas strávený s vámi.

Mé obrovské poděkování patří mým rodičům za jejich neustálou podporu v mém vzdělání a za víru ve mě, společně s nimi náleží poděkování také mému partnerovi a mým blízkým přátelům za jejich trpělivost, zájem o mé výsledky a grafy, které jim byly nenásilně prezentovány po celou dobu mého studia. Vážím si vaší lásky a také vašeho pochopení pro všechna má životní rozhodnutí, která si vybírají vždy tu náročnější cestu.

Na konec bych chtěla poděkovat za finanční podporu v průběhu mého studia, a to jmenovitě Grantové agentuře Univerzity Karlovy (GAUK 1464119), Grantové agentuře České republiky (GACR 20/13017S) a projektu START/MED/069.

## ABSTRAKT

---

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

**Kandidátka:** Mgr. Hana Horáčková

**Školitel:** prof. PharmDr. František Štaud, Ph.D.

**Název disertační práce:** Vliv antidepresiv na placentární homeostázu monoaminů

Deprese v těhotenství je stále častějším problémem a uvádí se, že až 25 % těhotných žen trpí depresí a přibližně 13 % z nich jsou předepisována antidepresiva. V současné době jsou v těhotenství nejčastěji předepisovanými antidepresivy selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu (SNRI). Bezpečnost této léčby je však stále sporná, protože u těhotných žen užívajících antidepresiva byly hlášeny nepříznivé účinky na průběh těhotenství a vývoj plodu, jako jsou orgánové malformace, zvýšený výskyt neurologických poruch či preeklampsie. Nicméně v současné době stále chybí znalost zodpovědných mechanismů, které doposud nebyly dostatečně zkoumány. Přestože vliv antidepresiv na dostupnost serotoninu (5-HT), dopaminu (DA) a noradrenalinu (NA) v mozkové tkáni je v literatuře podrobně charakterizován, interakcím antidepresiv s placentárními monoaminovými transportéry nebyla do dnešní doby věnována pozornost. Správná koncentrace monoaminů ve fetoplacentární jednotce je však kritická pro správný vývoj placenty a plodu a jakékoliv narušení může vést ke změnám ve fetálním programování.

Z tohoto důvodu jsem se v této disertační práci zabývala akutním a chronickým efektem antidepresiv na fetoplacentární homeostázu monoaminů. Pro splnění těchto cílů jsem nejprve stanovovala transportní mechanismy, kterými jsou monoaminy placentou vychytávány z mateřské a fetální cirkulace. Po identifikaci serotoninového transportéru (SERT), noradrenalinového transportéru (NAT) a transportéru organických kationtů 3 (OCT3), hlavních transportérů zprostředkovávajících vychytávání monoaminů na mikrovilózní (MVM) a bazální membráně (BM), jsem stanovila inhibiční efekt antidepresiv na jejich transportní funkci v placentě. Následně jsem potvrdila vhodnost použití potkaního modelu pro studium vlivu dlouhodobé léčby paroxetinu na homeostázu monoaminů v placentě a fetálním mozku a na uteroplacentární a fetoplacentární cirkulaci, která byla poslední částí mého výzkumu.

K získání výsledků bylo využito široké spektrum experimentálních metod, které zahrnovaly potkaní modely, konkrétně *in situ* duální a umbilikální perfuze potkaní placenty a dlouhodobou léčbu březích potkaních samic paroxetinem. Dále byly využity akumulární studie využívající *ex vivo* izolované lidské

placentární membránové vezikuly, *in vitro* buněčné kultury (HRP-1, transfekované MDCKII), metody molekulární biologie ke stanovení relativní a absolutní genové exprese, qRT-PCR a ddPCR, a metoda Western blotu ke stanovení exprese proteinu. Na závěr, Dopplerovská ultrasonografie, unikátní zobrazovací metoda, byla použita ke studiu rezistence uterinních a umbilikálních arterií.

Výsledky této disertační práce poskytují v první řadě vhled do fyziologických aspektů transportu 5-HT, DA a NA přes lidskou a potkaní placentu a v druhé řadě přináší dosud nepopsaný mechanismus, kterým akutně a chronicky podaná antidepressiva během těhotenství narušují fetoplacentární homeostázu těchto monoaminů: 1) Antidepressiva inhibují vychytávání monoaminů z mateřské cirkulace zprostředkované SERT a NAT a z fetální cirkulace zprostředkované OCT3. 2) Paroxetin podávaný v průběhu celé gestace u potkana má za následek zvýšenou rezistenci uterinních a umbilikálních arterií, která může být způsobena akumulací monoaminů v krevním řečišti společně s predominancí nevětvícího typu placentární angiogeneze. 3) Paroxetin podávaný v průběhu celé gestace u potkana down reguluje expresi všech genů důležitých pro placentární homeostázu 5-HT, DA a NA a up reguluje expresi dopamin- $\beta$ -hydroxylázy (DBH) a transportéru aminokyselin typu L1 ve fetálním mozku. Vzhledem k tomu, že v klinické praxi neexistuje momentálně vhodnější volba antidepressivní terapie, jsou naše zjištění farmakologicky relevantní pro zajištění bezpečnosti užívání těchto léčiv během těhotenství.

## ABSTRACT

---

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Kralove

Department of Pharmacology and Toxicology

**Candidate:** Mgr. Hana Horackova

**Supervisor:** prof. PharmDr. Frantisek Staud, Ph.D.

**Title of doctoral thesis:** Effect of antidepressants on placental monoamine homeostasis

Depression in pregnancy is an increasingly common problem and it is reported that up to 25 % of pregnant women suffer from depression and approximately 13 % are prescribed antidepressants. Currently, the most commonly prescribed antidepressants in pregnancy are selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs). However, the safety of these treatments is still controversial, as poor pregnancy outcomes such as organ malformations, increased incidence of neurological disorders, and preeclampsia have been reported in pregnant women taking antidepressants. However, knowledge of the responsible mechanisms is still lacking at present as they have not been sufficiently investigated. Although the effect of antidepressants on the availability of serotonin (5-HT), dopamine (DA) and norepinephrine in brain tissue has been extensively characterized in the literature, the interactions of antidepressants with placental monoamine transporters have not received attention to date. However, appropriate levels of monoamines in the fetoplacental unit are critical for proper placental and fetal development, and any disruption can lead to changes in fetal programming.

For this reason, in this dissertation I have investigated the acute and chronic effects of antidepressants on fetoplacental monoamine homeostasis. To accomplish these goals, I first determined the transport mechanisms by which monoamines are taken from the maternal and fetal circulation up. After identifying serotonin transporter (SERT), norepinephrine transporter and organic cation transporter 3 (OCT3), the major transporters mediating monoamine uptake through microvillous (MVM) and basal membrane (BM), respectively, I confirmed the acute inhibitory effect of antidepressants on their transport function in the placenta. Subsequently, I confirmed the suitability of using a rat model to study the effect of long-term paroxetine treatment on monoamine homeostasis in the placenta and fetal brain and on uteroplacental and fetoplacental circulation, which was the last part of my research.

A wide range of experimental approaches has been used to obtain the results, including rat models, specifically *in situ* dual and umbilical perfusion of the rat placenta and long-term treatment of pregnant rats with paroxetine. In addition, accumulation studies using *ex vivo* isolated human placental

membrane vesicles, *in vitro* cell cultures (HRP-1, transfected MDCKII), molecular biology methods to determine relative and absolute gene expression, qRT-PCR and ddPCR, and western blotting to determine protein expression were used. Finally, a unique imaging technique, Doppler ultrasonography, was used to study the resistance of the uterine and umbilical arteries.

The results of this dissertation thesis provide, first, insight into the physiological aspects of 5-HT, DA, and norepinephrine transport across the human and rat placenta, and second, a previously undescribed mechanisms by which acutely and chronically administered antidepressants during pregnancy disrupt fetoplacental homeostasis of monoamine: 1) Antidepressants inhibit monoamine uptake from maternal circulation mediated by SERT and norepinephrine transporter and from fetal circulation mediated by OCT3. 2) Paroxetine administered throughout gestation in rats results in increased resistance of uterine and umbilical arteries, which may be due to the accumulation of monoamines in the bloodstream together with the predominance of the non-branching type of placental angiogenesis. 3) Paroxetine administered throughout gestation in rats downregulates the expression of all genes involved in placental homeostasis of 5-HT, DA and norepinephrine and upregulates dopamine- $\beta$ -hydroxylase (DBH) and L-type amino acid transporter expression in the fetal brain. Given that there is currently no more appropriate choice of antidepressant therapy in clinical practice, our findings are pharmacologically relevant to ensure the safety of using these drugs during pregnancy.



## OBSAH

---

1.	SEZNAM ZKRATEK.....	1
2.	ÚVOD .....	2
3.	TEORETICKÁ ČÁST.....	4
3.1	Placenta .....	4
3.1.1	Vývoj placenty .....	4
3.1.2	Morfologie placenty .....	5
3.1.3	Buňky trofoblastu .....	6
3.1.4	Funkce placenty.....	7
3.2	Placentární transport.....	8
3.2.1	SLC transportéry .....	9
3.2.2	SLC transportéry exprimované na mikrovilózní membráně.....	11
3.2.3	SLC transportéry exprimované na bazální membráně .....	15
3.3	Fyziologie monoaminů: význam v těhotenství .....	16
3.3.1	Serotonin .....	16
3.3.2	Dopamin .....	19
3.3.3	Noradrenalin.....	21
3.4	Deprese v těhotenství a její léčba .....	22
3.4.1	Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu – SSRI .....	24
3.4.2	Inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu – SNRI .....	25
3.4.3	Nežádoucí účinky antidepresiv v těhotenství.....	25
3.5	Experimentální metody pro studium vlivu antidepresiv na placentární homeostázu monoaminů .....	26
3.5.1	<i>Ex vivo</i> izolace membrán lidské placenty .....	26
3.5.2	<i>In vitro</i> buněčné modely.....	27
3.5.3	<i>In situ</i> perfuze potkaní placenty .....	27
3.5.4	<i>In vivo</i> chronická léčba březích potkaních samic.....	27
3.5.5	<i>In vivo</i> Dopplerovská ultrasonografie.....	28
3.5.6	Metody molekulární biologie .....	28
4.	CÍLE PRÁCE.....	29
5.	KOMENTÁŘE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM A PODÍL KANDIDÁTKY.....	30
5.1	Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta .....	30
5.2	Functional characterization of dopamine and norepinephrine transport across the apical and basal plasma membranes of the human placental syncytiotrophoblast .....	32

5.3	Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives.....	34
5.4	Perfused rat term placenta as a preclinical model to investigate placental dopamine and norepinephrine transport.....	36
5.5	Effects of prenatal paroxetine treatment on monoamine homeostasis in the rat fetoplacental unit.....	38
6.	ZÁVĚR .....	40
7.	SEZNAM DALŠÍCH VÝSTUPŮ KANDIDÁTKY .....	44
7.1	Seznam publikací kandidátky nesouvisejících s tématem disertační práce .....	44
7.2	Prezentace dat na odborných konferencích .....	44
7.2.1	Ústní prezentace.....	45
7.2.2	Posterové prezentace.....	46
7.3	Zahraniční stáže.....	46
7.4	Ocenění získaná během doktorského studia.....	46
7.5	Grantové projekty .....	46
8.	CITACE .....	47
9.	SEZNAM PŘÍLOH .....	56

## 1. SEZNAM ZKRATEK

---

5-HT	5-hydroxytryptamin; serotonin
5-HIAA	5-hydroxyindol aminooctová kyselina
A	adrenalin
ABC transportéry	ATP-binding cassette transporters
ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou
BCRP	breast cancer resistance protein
BM	bazální membrána
CNS	centrální nervová soustava
COMT	katechol-O-metyltransferáza
DA	dopamin
DAT	dopaminový transportér
DBH	dopamin- $\beta$ -hydroxyláza
ddPCR	digitální polymerázová řetězová reakce
IC50	poloviční maximální inhibiční koncentrace
MAO-A	monoaminoxidáza A
MRP	multidrug resistance-associated protein
MVM	mikrovilózní membrána
NA	noradrenalin
NAT	noradrenalinový transportér
OCT3	transportér organických kationtů 3
P-gp	P-glykoprotein
PNMT	fenyletanolamin-N-metyltransferáza
SERT	serotoninový transportér
SLC	transportní membránové proteiny pro elektrolyty
SNRI	inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu
SSRI	selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu
STB	syncytiotrofoblast
TPH	tryptofan hydroxyláza
VMAT	vezikulární monoaminový transportér

## 2. ÚVOD

---

Deprese je jednou z nejčastějších komplikací v těhotenství. Odhady její prevalence se značně liší, ale nejnovější údaje uvádějí, že depresí a/nebo úzkostí trpí až 25 % těhotných žen [1]. Epidemiologické studie navíc zjistily negativní vliv neléčené deprese během těhotenství na výsledky těhotenství [2]. V současné době je tedy až 13 % těhotných žen předepisováno jedno nebo více antidepresiv, nejčastěji selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) a inhibitory zpětného vychytávání serotoninu/noradrenalinu (SNRI) [3, 4]. Tyto léky inhibují zpětné vychytávání serotoninu (5-HT) a noradrenalinu (NA) v neuronálních buňkách tím, že blokují jejich specifické transportéry na presynaptické membráně, a zvyšují tak extraneuronální koncentrace 5-HT a NA v mozku [5]. SSRI/SNRI jsou velmi lipofilní léčiva, která procházejí placentární bariérou a mohou ovlivňovat homeostázu monoaminů ve fetoplacentární jednotce, čímž ohrožují placentární funkce a vývoj plodu [6]. V posledních několika desítkách let přibýlo epidemiologických studií tentokrát se zaměřujících na negativní vliv antidepresivní léčby na výsledky těhotenství. Velké množství studií spojilo jejich používání s nepříznivými vlivy na tělesný a neurologický vývoj plodu promítající se kdykoliv během života [7, 8]. Užívání antidepresiv u těhotných žen proto zůstává kontroverzní. Mechanistické příčiny jejich nepříznivého působení však stále nejsou zcela objasněny.

5-HT, dopamin (DA) a NA jsou klíčovými monoaminovými neuromodulátory a vývojovými signálními molekulami v centrální nervové soustavě (CNS). Regulují proliferaci a migraci neuronálních buněk a zajišťují správný vývoj mozku. Změny v jejich signalizaci ve fetálním mozku jsou spojeny s různými negativními neurologickými následky [9, 10]. 5-HT je také důležitý pro vývoj a funkci několika dalších orgánů a tělesných systémů, včetně srdce, plic, gastrointestinálního traktu a hypotalamo-hypofyzární osy [11]. NA je klíčovou látkou pro postnatální adaptaci [12] a DA má vliv na placentární endokrinní funkci [13, 14]. Přísně kontrolované hladiny všech monoaminů ve fetoplacentární jednotce v průběhu celé gravidity jsou tedy klíčové pro udržení ideálních *in utero* podmínek pro vývoj plodu a fetální programování. V důsledku toho může jakákoli inzultace homeostatických mechanismů 5-HT, DA a NA během gestace zvýšit riziko špatných výsledků těhotenství.

Přestože placenta není neuronální tkáň, má podobný mechanismus homeostázy monoaminů jako mozek. Buňky trofoblastu exprimují serotoninový transportér (SERT) [15] a noradrenalinový transportér (NAT) [16] na mikrovilózní membráně (MVM) směřující k matce a transportér organických kationtů 3 (OCT3) na bazální membráně (BM) směřující k plodu [17, 18]. Kromě toho jsou lidské buňky trofoblastu plně vybaveny enzymy produkujícími 5-HT: tryptofan hydroxylázou (TPH) a monoaminy degradujícími enzymy: monoaminoxidázou A (MAO-A) [19] a katechol-O-metyltransferázou (COMT)

[20]. Enzymy produkující DA a NA nejsou v lidských buňkách trofoblastu exprimovány (nepublikovaná data, Karahoda a kol., 2023) [21]. Všechny tyto transportéry a enzymy spolupracují za účelem udržení správných koncentrací 5-HT, DA a NA ve fetoplacentární jednotce. Jejich zásadní role proti akumulaci monoaminů v mateřské a fetální cirkulaci je podtržena zvýšenou expresí SERT, OCT3, NAT a MAO-A v průběhu gestace [19, 21, 22].

Schopnost vybraných antidepresiv inhibovat SERT, NAT a OCT3 [23] byla v literatuře detailně popsána, nicméně význam této interakce v placentární bariéře nebyl dosud zkoumán. V této disertační práci předpokládáme, že antidepresiva mohou zasahovat do prenatální homeostázy monoaminů tím, že ovlivňují jejich placentární clearance na mateřské i fetální straně placenty, což vede k suboptimálním koncentracím 5-HT, DA a NA ve fetoplacentární jednotce.

Výsledky této práce charakterizují transport 5-HT, DA a NA přes lidskou a potkaní placentu a dále přináší nové mechanismy, jakými je tento transport narušen akutním a chronickým vlivem antidepresiv. Navíc, díky využívání jak lidské tak i potkaní placentární tkáně, přinášíme důležité informace o mezidruhovém porovnání, které podporují využití *in situ* duální perfuze potkaní placenty ke screeningu toxicity léčiv v těhotenství a dále vhodnost používání potkaních modelů k dlouhodobým studiím zaměřujícím se na homeostázu monoaminů v placentě či v plodu.

### 3. TEORETICKÁ ČÁST

---

#### 3.1 Placenta

Placenta je dočasný, ale plnohodnotný fetální orgán, který představuje unikátní spojení mezi matkou a plodem a který společně s dělohou tvoří nezbytný systém k udržení a ke zdárnému průběhu těhotenství. Placenta zajišťuje řadu vitálních funkcí, čímž zastupuje nezralou vylučovací, trávicí, dýchací, endokrinní či imunitní soustavu plodu. Protože žádný jiný orgán v lidském těle nezajišťuje tolik funkcí, multifunkčnost placenty je velmi unikátním jevem. Během těhotenství se placenta vyvine do průměrné váhy 500 gramů, průměru 20 cm a šířky 3 cm. Správná velikost a váha placenty je ukazatelem zdravého průběhu těhotenství. Vyšší či nižší placentární váha, než je odpovídající gestačnímu věku, je spojena s negativním vlivem na plod [24]. Placenta se postupně vytváří během prvních tří měsíců těhotenství, následně po čtvrtém měsíci roste souběžně s vývojem dělohy, až je nakonec po porodu vyloučena [25]. I přes zcela zásadní roli ve vývoji nového života nebyla placentárnímu výzkumu v minulosti věnována dostatečná pozornost. Ta se začala zvyšovat po roce 1993, kdy epidemiolog David Barker se svými kolegy přivedl na svět novou teorii fetálního programování. Hlavní myšlenkou teorie fetálního programování je spojení nepříznivých *in utero* podmínek během fetálního života se vznikem strukturních a funkčních změn ve fetoplacentární jednotce. Tyto adaptační změny umožňují plodu přežít, nicméně za cenu zvýšené predispozice k různým patologickým jevům v dospělosti, typicky metabolickým, kardiovaskulárním onemocněním či poruchám CNS [26-28]. Placenta tedy reguluje nejen růst a vývoj plodu během těhotenství, ale také se podílí na předurčení zdravotního stavu v průběhu celého života.

##### 3.1.1 Vývoj placenty

Po oplodnění vajíčka spermií vzniká zygota. Během prvního týdne se v průběhu rýhování zygota přetváří v morulu, která postupem času obsahuje kompaktní shluk buněk a na povrchu má zonu pellucidu. Ve chvíli, kdy morula vstupuje kolem čtvrtého dne do děložního prostoru, zona pellucida se stává propustnější, morula přijímá tekutinu ze svého okolí a stává se z ní blastocysta. Ta se implantuje do děložní deciduy přibližně osm dní po oplodnění. V blastocystě se z vnitřní buněčné hmoty vyvíjí embryoblast a z vnější buněčné hmoty trofoblast, který obklopuje celé embryo. Po implantaci dochází k intenzivní proliferaci a diferenciaci buněk a trofoblast se rozděluje na dvě vrstvy, cytotrofoblast, vnitřní vrstvu, a syncytiotrofoblast (STB), vnější vrstvu. STB tvoří enzymy, které dále narušují děložní sliznici, a embryo se zanořuje hlouběji. V syncytiu se dále tvoří dutinky, které se postupně spojují do větších lakun. Buňky STB pronikají stále hlouběji do děložní stěny a narušují endoteliální vrstvu krevních kapilár, v důsledku čehož dochází ke vstupu mateřské krve do lakun. Díky tomu vzniká uteroplacentární

cirkulace a embryo může začít čerpat živiny z mateřské cirkulace. Kolem 11.–16. dne po oplodnění se začínají formovat primární choriové klky. Jsou tvořené cytotrofoblastem, který je pokryt vrstvou STB. V pozdějším stádiu, okolo 16.–21. dne těhotenství, ale degenerují a zůstávají pouze v oblasti proti decidue basalis, čímž vznikají sekundární choriové klky, které na rozdíl od primárních klků obsahují navíc mesoderm. Konečně, kolem 21. dne po oplodnění, vznikají terciální choriové klky. Během tohoto stádia prorůstají větve umbilikálních cév do mezodermu; tím dochází k vaskularizaci choriových klků. Terciální choriové klky obsahují trofoblast, mesoderm a cévy. Embryonální krev je do klků přiváděna větvemi umbilikálních arterií a po cirkulaci přes choriové klky se vrací umbilikální vénou zpět do embrya. Kolem 4.–5. měsíce se placenta rozděluje na straně deciduy basalis do kotyledonů, což je provázeno definitivními změnami v histologické stavbě choriových klků [25, 29-31].

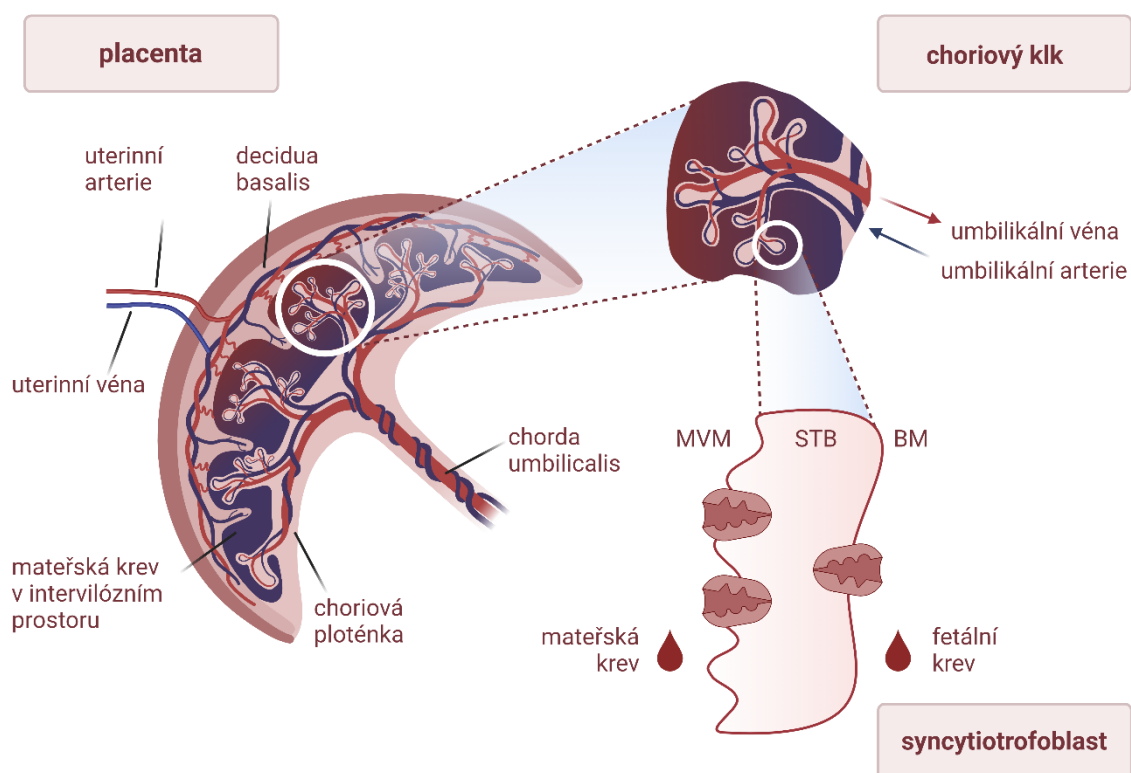
### 3.1.2 Morfologie placenty

Struktura placenty je jedinečná a liší se napříč živočišnými druhy. Typy placenty jsou klasifikovány z různých hledisek, kdy zejména histologická struktura je obecně považována za jednu z nejčastějších klasifikací pro funkční popis placentárního typu. Dle histologického hlediska rozeznáváme tři typy placenty v závislosti na typu buněčných vrstev tvořících interhemální oblast. První je epitelochořiální typ, který je typický pro koně, prasata a přežvýkavce. Je to nejjednodušší typ, postrádající významnou děložní invazi. Takzvané kapsy trofoblastu jsou přiloženy k mateřskému endometriálnímu epitelu. Dalším typem je endoteliochořiální typ, který nalezneme u masožravců. Zde děložní epitel a pojivová tkáň po implantaci mizí a trofoblast se dostává do přímého kontaktu s mateřskou dělohou. Posledním placentárním typem je hemochořiální typ. Tento typ placenty je nejvíce invazivní. Všechny vrstvy mateřské tkáně zanikají a dochází k přímému spojení choria s mateřskou krví. Podrobněji můžeme rozlišit hemochořiální typ dle počtu buněčných vrstev v interhemální oblasti, který určuje přenos živin mezi mateřskou a fetální cirkulací. Dle počtu vrstev trofoblastu ho tedy dělíme na hemomonochoriální (typický pro primáty), hemodichoriální (typický pro králíky) a hemotrichoriální (typický pro potkany/myši). Dle hrubé morfologie rozdělujeme čtyři typy placenty: difúzní, multikotyledonární, zonární a diskoidní [32].

Důležité je také, jakým uspořádáním tvoří mateřská a fetální tkáň placentu. U hlodavců a nižších primátů nalezneme labyrintové uspořádání, v němž mateřská krev cirkuluje pavučinovitými kanály uvnitř fetálního STB [32, 33]. Naproti tomu u člověka fetální choriové klky jsou v přímém kontaktu s prostorem vyplněným mateřskou krví, což je popisováno jako vilózní typ [34].

Lidská placenta je hemochořiálního, diskoidního typu. Na placentě rozlišujeme deciduu basalis na mateřské straně a choriovou ploténku na fetální straně (obrázek 1). Decidua basalis rozděluje

placentární tkáň do menších funkčních jednotek, kotyledonů. Každý kotyledon je tvořen choriovými klky, které vyrůstají z choriové ploténky. Právě v terminálních oblastech těchto choriových klků dochází k výměně mezi matkou a plodem. Mezi těmito dvěma oblastmi se nachází takzvaný intervilózní prostor. Cirkulující mateřská krev vstupuje do tohoto prostoru spirálními endometriálními arteriemi, omývá klky a odtéká zpět endometriálními vénami. Krev plodu s nedostatkem kyslíku přichází dvěma umbilikálními arteriemi a rozvětvenými choriovými arteriemi do rozsáhlého arteriokapilárně-venózního systému uvnitř choriových klků. Okysličená fetální krev v kapilárách se vrací do plodu různými choriovými vénami a jedinou umbilikální vénou [35].



Obrázek 1: Struktura placenty a choriového klku s náhledem do STB. Vytvořeno pomocí BioRender.com.

Zkratky: BM – bazální membrána, MVM – mikrovilózní membrána, STB – syncytiotrofoblast.

### 3.1.3 Buňky trofoblastu

Proces placentace u člověka zahrnuje období od invaze endometria blastocystou po tvorbu spirálních arterií. Prvními buňkami, které se diferencují z oplozeného vajíčka, jsou buňky trofoblastu, které na začátku těhotenství tvoří vnější vrstvu blastocysty, která zásobuje embryo živinami a z ní se vyvíjí velká část placenty. Během implantace buňky trofoblastu pronikají do mateřského endometria. Jako vysoce proliferativní buňky dávají základ pro vznik trofoblastu dvojího fenotypu, vilózního a extravilózního.



Vilózní fenotyp vzniká spojováním mononukleárních buněk cytotrofoblastu, tvořících vnitřní vrstvu klků, za vzniku vícejaderných buněk STB, tvořících vnější vrstvu choriových klků. STB je ohraničen MVM, směřující k matce, a BM, směřující k plodu, a tvoří rozhodující část placentární bariéry.

U extravilózního fenotypu se buňky trofoblastu přesouvají do deciduy. Tyto buňky se diferencují v intersticiální či endovaskulární trofoblast. Intersticiální trofoblast proniká do mateřské deciduy, interaguje s děložními buňkami, což je nezbytné pro uchycení embrya a imunologickou akceptaci. Endovaskulární trofoblast na začátku těhotenství vytváří zátku v mateřských spirálních arteriích, aby se tak zabránilo předčasnému průtoku krve. Po vzniku krevního oběhu nahrazuje endotelové buňky ve spirálních arteriích a přeměňuje je na nízko odporové, vysoce kapacitní cévy. Tento proces se nazývá remodelace mateřských spirálních arterií. Správný proces a hloubka invaze je zásadní pro placentární vaskulaturu a zajištění správného přísunu krve, kyslíku a živin v těhotenství [36-39].

### 3.1.4 Funkce placenty

Placentární tkáň má mnoho funkcí nezbytných pro správný vývoj plodu. Kritickým místem je STB, který tvoří rozhraní matky a plodu a vykazuje vysokou metabolickou aktivitu [40]. Jeho hlavní rolí je tedy transportní a metabolická funkce. Živiny a kyslík jsou přenášeny směrem k plodu a odpadní látky, oxid uhličitý a metabolity jsou přenášeny směrem z plodu do mateřské cirkulace. Kyslík a oxid uhličitý jsou malé molekuly, které snadno prochází placentou prostřednictvím pasivní difuze. Transport živin je zprostředkován specifickými transportéry exprimovanými na MVM a BM. Jsou to například transportéry pro glukózu, mastné kyseliny, lipoproteiny či aminokyseliny. Menší molekuly, jako jsou ionty, jsou transportovány pasivní difuzí. Nicméně například vápník, železo a vitamíny jsou transportovány aktivním transportem. Voda se pohybuje prostou difuzí podle hydrostatického a osmotického gradientu. Navíc se zapojují některé vodní kanály [35, 41, 42].

STB hraje také hlavní roli v ochraně plodu proti xenobiotikům, často lipofilním látkám, které procházejí placentární bariérou pasivní difuzí po koncentračním gradientu [36]. Tyto látky však mohou být rozpoznány ABC transportéry (ATP-binding cassette transporters) exprimovanými na MVM a vráceny zpět do mateřského oběhu, čímž chrání plod před škodlivými účinky. Nejlépe charakterizovanými ABC transportéry v placentě jsou P-glykoprotein (P-gp) [43] a breast cancer resistance protein (BCRP) [44].

Endokrinní funkce placenty je naprosto nezbytná po celou dobu těhotenství. Mezi hlavní produkty patří lidský choriový gonadotropin, placentární laktogen, estrogen a progesteron. Lidský choriový gonadotropin je produkován od začátku těhotenství STB a jeho produkce vrcholí kolem 8. týdne těhotenství, jeho hlavní funkcí je stimulace produkce progesteronu a estrogenů žlutým tělískem. Rovněž lidský placentární laktogen je produkován STB a snižuje mateřskou citlivost k inzulínu, což vede

ke zvýšení hladin glukózy v mateřské krvi. Dále stimuluje produkci plicního surfaktantu a syntézu adrenokortikotropních hormonů a podporuje tvorbu mateřského mléka. Do konce 8. týdne těhotenství žluté tělísko produkuje progesteron a estrogeny. Nicméně tuto roli postupem času přebírá placenta. Progesteron zabraňuje děložním stahům a nástupu porodu. Funkcí estrogenů je pak stimulovat růst dělohy a vývoj mléčných žláz. Mezi další produkty pak patří růstové hormony, steroidní hormony a neurotransmitery [35, 45].

Důležitá je také imunitní funkce placenty, která chrání plod před atakem imunitního systému matky. Kromě toho také hraje roli v přenosu imunoglobulinu G směrem k plodu, čímž plod chrání a připravuje jej na postnatální období, kdy nemá novorozenec zralý imunitní systém [46].

V neposlední řadě, jak již bylo zmíněno v úvodu teoretické části, placenta predisponuje zdravotní stav jedince v dospělosti, a to díky kritické roli ve fetálním programování plodu [28].

### 3.2 Placentární transport

Placenta funguje jako bariéra mezi mateřskou a fetální cirkulací, která přísně kontroluje přestup látek směrem k plodu. Ty jsou transportovány na základě různých transportních mechanismů. K výměně přes placentární membránu může docházet třemi hlavními procesy: pasivním transportem, aktivním transportem či endo-/exocytózou. Pro transport jakékoliv látky musíme brát také v úvahu míru její vazby na plasmatické proteiny a její fyzikálně-chemické vlastnosti. Základními typy pasivního transportu jsou prostá a facilitovaná difuze. Prostou difuzí přechází malé nenabitě látky ve směru elektrochemického gradientu a bez spotřeby energie ve formě ATP. Rychlost difuze nenabitě molekuly je určena Fickovým difuzním zákonem a je tedy úměrná ploše povrchu pro výměnu dané molekuly a jejímu koncentračnímu gradientu a nepřímo úměrná difuzní vzdálenosti mezi oběhy [47]. Difuze malých, relativně hydrofobních molekul, jako jsou dýchací plyny, probíhá rychle a je udržována vyšší afinitou kyslíku k fetální krvi a vysokou koncentrací fetálního hemoglobinu, Bohrovým efektem, dvojitým Bohrovým efektem a průtokem krve [35, 48]. Odstraňování oxidu uhličitého je udržováno také průtokem krve, Haldaneovým a dvojitým Haldaneovým efektem [48]. Poškození uterinního nebo umbilikálního oběhu proto může mít zásadní vliv na rychlost růstu plodu. Dalšími typickými látkami využívajícími pasivní difuzi jsou sodík, draslík, kyslík a oxid uhličitý [47].

Facilitovaná difuze probíhá také ve směru elektrochemického gradientu a bez spotřeby energie, nicméně pomocí membránových transportérů. Zapojení transportéru slouží k usnadnění výměny hydrofilních nebo nabitých molekul. Transportní proteiny tvoří velkou a různorodou rodinu, ale mají společné rysy, jako je substrátová specifita, kinetika nasycení a schopnost kompetitivní inhibice. Jejich

využití urychluje výměnu po koncentračním gradientu. Klasickým příkladem v placentě jsou rodiny transportérů glukózy, transportéry organických aniontů a OCT [49-51].

Aktivním transportem jsou přenášeny větší molekuly proti koncentračnímu gradientu za hydrolýzy ATP. Tento typ přenosu zprostředkovávají ABC transportéry a některé transportní membránové proteiny pro elektrolyty (SLC transportéry). ABC transportéry se chovají jako efluxní pumpy, čímž snižují přestup především xenobiotik z mateřské do fetální cirkulace. Nicméně hrají roli i v přenosu endogenních látek, například lipoproteinů [52]. Nejznámějšími zástupci jsou transportéry s širokou substrátovou specifitou, a to P-gp, multidrug resistance-associated protein (MRP) a BCRP [53]. Aktivní transport může být primární a sekundární. U primárního transportu je přenášena pouze jedna částice. U sekundárního transportu je jako zdroj energie využito spřažení s přenosem další jiné látky ve směru koncentračního gradientu. Takto pasivně přenesená částice vytvoří energii uloženou v gradientu a ta je následně využita pro transport proti koncentračnímu gradientu. Typické rozdělení aktivního transportu je dle počtu přenášených částic na uniport (jedna molekula) a kotransport (dvě a více molekul). Kotransport může být dále dělen dle vzájemného směru přenášených látek na symport (stejný směr) a antiport (opačný směr) [54].

Endocytóza je proces, při kterém se na apikálním povrchu buňky vytvářejí invaginace, které se odštěpují a pronikají hlouběji do cytoplazmy. Tam mohou splynout s vezikulami lysozomální cesty nebo projít buňkou a splynout s bazálním povrchem v procesu exocytózy. První způsob dodává živiny k rozkladu proteolytickými enzymovými molekulami a využití buňkou, zatímco druhý představuje transportní cestu. Oba způsoby jsou aktivní v lidském placentárním STB [55]. Během prvního trimestru se tak v amniové tekutině hromadí řada proteinů mateřského původu [56], zatímco v pozdějších fázích těhotenství tímto mechanismem prochází placentou imunoglobulin G [47].

V rámci mé disertační práce jsem se zaměřovala výhradně na SLC transportéry zodpovědné za placentární transport monoaminů. Proto se budu v následujících odstavcích věnovat vybraným transportérům relevantním pro tuto disertační práci.

### **3.2.1 SLC transportéry**

SLC transportéry jsou transmembránové proteiny, které regulují transport široké škály substrátů (cukrů, aminokyselin, nukleotidů, anorganických kationtů/aniontů, kovů, léčiv) přes biologické membrány. Hrají důležitou roli ve fyziologických procesech, od buněčného příjmu živin až po absorpci léčiv a jiných xenobiotik. Organizace pro lidský genom zařadila celkem 396 genů pro SLC transportéry u člověka, které byly dále rozděleny do 52 rodin na základě jejich sekvenční podobnosti a substrátové příbuznosti [57]. SLC transportéry mají různou specifitost - od vysoce selektivních transportérů, které

interagují s úzkou skupinou substrátů, jako jsou např. transportéry monoaminů z rodiny SLC6, až po transportéry, které přijímají širokou škálu chemicky různorodých substrátů, jako jsou např. transportéry z rodiny SLC22 [50].

SLC transportéry jsou převážně facilitační nebo sekundárně aktivní; to znamená, že se spoléhají buď na elektrochemický gradient, který usnadňuje pohyb substrátů přes membránu, nebo na iontové gradienty vytvářené ATP-dependentními pumpami, které přenášejí substráty proti koncentračnímu gradientu. Terciárně aktivní přenašeče, jako je transportér organických aniontů 1, spoléhají na gradienty generované sekundárně aktivními přenašeči a mohou své substráty přenášet také proti koncentračnímu gradientu. Mnoho SLC přenašečů může fungovat jak při influxu, tak při efluxu svých substrátů a čistý směr toku přes buněčnou membránu závisí na gradientu substrátu (nebo v případě sekundárních či terciárních přenašečů na gradientu spolupřenášených nebo protipřenášených iontů) [58].

Pro tuto disertační práci jsou nejdůležitější transportéry monoaminů, kam patří serotoninový transportér, noradrenalinový transportér, dopaminový transportér a nově také transportér organických kationtů 3. Tyto transportéry jsou cílem antidepresivní farmakoterapie, jelikož jejich inhibice snižuje clearance neurotransmiterů na synapsích, čímž se prodlužuje doba jejich setrvání v synaptické štěrbině. Výsledná zvýšená koncentrace monoaminů v synaptické štěrbině zvyšuje obsazenost postsynaptických receptorů, což vede ke zvýšené aktivaci iontových kanálů vázaných na ligandy a modulaci signalizace receptorů spřažených s G-proteiny. Následné mechanismy, díky kterým tyto léky nakonec působí antidepresivně (což se může projevit až po několika týdnech), však zatím nejsou detailně popsány [58].

Zástupci SLC transportérů relevantní pro tuto disertační práci budou popsány v závislosti na expresi v STB.

### 3.2.2 SLC transportéry exprimované na mikrovilózní membráně

#### 3.2.2.1 SLC6A4 – serotoninový transportér

SLC6A4 (solute carrier family 6 member 4), jinak známý jako serotoninový transportér (SERT), je integrální transmembránový protein, který hraje ústřední roli v regulaci homeostázy 5-HT. Ta souvisí s řízením nálady a sociálního chování, spánku, chuti k jídlu, paměti, trávení a sexuální touhy [59]. SERT je nejčastěji exprimován v mozkové tkáni [60], gastrointestinálním traktu [61], chromafinních buňkách nadledvin [62], žírných buňkách a krevních destičkách [63], plicích [64] a kožních buňkách [65] a na mikrovilózní membráně placenty [15].

SERT je vysokoafinitní, nízkokapacitní transportér závislý na koncentraci nitrobuněčného  $K^+$  a mimobuněčného  $Na^+$  a  $Cl^-$  [66]. Zprostředkovává sekundárně aktivní transport poháněný transmembránovým elektrochemickým gradientem  $Na^+$ , který slouží jako primární zdroj energie a je generován sodno-draselnou pumpou.  $Na^+$  navíc stabilizuje otevřenou konformaci transportéru směrem ven a tím zvyšuje afinitu 5-HT k transportéru. Místo pro vazbu substrátu se nachází ve středu transportéru, v polovině membrány. Transportní cyklus vedoucí k vychytávání 5-HT je zahájen navázáním substrátu a společně přenášených iontů  $Na^+$  a  $Cl^-$  v konformaci otevřené směrem ven. Úplné sestavení transportního komplexu sestávajícího z navázaných iontů a 5-HT vede nejprve k okluzi 5-HT v místě vazby substrátu, po níž následuje přechod do konformace otevřené dovnitř, z níž se substrát a ionty uvolňují do cytosolu [67]. Návrat do konformace otevřené směrem ven je usnadněn antiportem  $K^+$  nebo  $H^+$  ven z buňky. Díky tomu je transport zprostředkovaný SERT elektroneutrální, jelikož nedochází ke změně v transmembránovém gradientu. Zároveň nitrobuněčná koncentrace  $K^+$  tedy zvyšuje transport substrátů, a to nezávisle na jeho membránovém gradientu [68]. Mimo to transport je zesílen také kyslejší nitrobuněčným pH [69].

Hlavní funkcí SERT na synapsích je zpětné vychytávání 5-HT ze synaptické štěrbině do presynaptického nervového zakončení, čímž je ukončena probíhající serotoninergní neurotransmise. V souladu s monoaminovou hypotézou deprese je inhibice SERT hlavním cílem farmakologické antidepressivní léčby, ale také cílem mnoha psychostimulancií, která vedou ke zvýšení dostupnosti 5-HT v synaptické štěrbině. V souladu s tím změněná funkce tohoto transportéru může vést k neurologickým onemocněním včetně deprese, úzkosti, poruch nálady a poruchy pozornosti s hyperaktivitou (ADHD) [59].

Lidský SERT je kódován jediným genem (SLC6A4), který se nachází na dlouhém raménku 17. chromozomu (17q11-17q12). Nejvíce zkoumanou oblastí genu SLC6A4 je promotorová oblast genu pro serotoninový transportér (5-HTTLPR), která se nachází 1 kb před místem iniciace transkripce genu

SERT. 5-HTTLPR byl předmětem velké pozornosti kvůli funkčnímu polymorfismu, který je tvořen delecí/inzercí 44 párů bází v 5' regulační oblasti. Varianta s inzercí 44 párů bází se označuje jako dlouhá (L) alela, zatímco varianta bez 44 párů bází se nazývá krátká (S) alela. Bylo prokázáno, že krátká varianta má nižší úroveň transkripce genu pro SERT. Několik studií prokázalo její významnou souvislost se zvýšeným rizikem deprese, ať už jako kandidátního genu nebo v interakci se stresovými událostmi. Krátká alela byla také spojena se zvýšeným rizikem poruch příjmu potravy, posttraumatické stresové poruchy a závislosti na alkoholu. Naproti tomu zvýšené riziko obsedantně-kompulzivní poruchy bylo spojeno s výskytem dlouhé alely [70].

Ačkoliv byl SERT považován za specifický transportér pro 5-HT, v posledních letech se prokázalo, že v závislosti na místě exprese a podmínkách může SERT přenášet také další neurotransmitery, NA a DA [71]. To bylo prokázáno například u NAT-/- knockoutovaných myší, kde vychytávání NA v mozkové tkáni bylo inhibovatelné SSRI [72].

SERT neřídí homeostázu 5-HT pouze centrálně na synapsích, ale také periferně včetně lidské placenty, kde je exprimován na MVM [15]. Placentární SERT je absolutně nezbytný pro transport 5-HT z mateřské cirkulace směrem k plodu, a to především na začátku těhotenství, kdy je plod závislý na mateřském a placentárním serotoninovém zdroji [17]. Vychytávání 5-HT z mateřské cirkulace je ovšem také kritické pro správnou regulaci uteroplacentárního krevního průtoku, jelikož 5-HT, jako vazokonstrikční látka, působí jako silný vazokonstriktor v uterinních cévách [73]. Podobně působí také v umbilikálních cévách [74, 75]. Důležitost funkce SERT potvrzuje jeho zvyšující se placentární exprese na úrovni proteinu s průběhem gestace [22].

### 3.2.2.2 SLC6A2 – noradrenalinový transportér

SLC6A2 (solute carrier family 6 member 2), jinak známý jako noradrenalinový transportér (NAT), je transmembránový protein, který hraje důležitou roli v regulaci dostupnosti NA v synapsích prostřednictvím jeho zpětného vychytávání ze synaptické štěrby zpět do presynaptického zakončení. Gen pro noradrenalinový transportér (SLC6A2) se nachází na chromozomu 16q12.2, který se rozkládá přibližně na 45 kb a skládá se ze 14 exonů [76]. Jeho nejvyšší exprese byla potvrzena v mozkové tkáni, dřeni nadledvin [77] a v placentě [16]. Nejvyšší hustota distribuce NAT v mozku je v oblasti locus coeruleus [78].

Transport substrátu skrze NAT se vyznačuje vysokou afinitou a nízkou kapacitou. Transport je sekundárně aktivní a závislý na vnějším  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$  gradientu a nitrobuněčném  $\text{K}^+$  a  $\text{H}^+$  gradientu. Většina tohoto transportéru je v cytoplazmě volně pohyblivá, jakmile se však na něj naváže  $\text{Na}^+$ , tato pohyblivost se ztratí. Lokalizace NAT na buněčné membráně je tedy závislá na přítomnosti vnějšího

$\text{Na}^+$  gradientu, který vytváří sodno-draselná pumpa. Vazba  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$  na transportér také snižuje Michaelisovu konstantu ( $K_m$ ) pro transport NA, čímž se zvyšuje jeho afinita k transportéru.  $\text{Na}^+$  je tedy vyžadován jak pro lokalizaci v membráně, tak pro samotný transport. NAT také vyžaduje pro svoji funkci volné disulfidové skupiny a lipidy, jelikož se na buněčnou membránu rekrutuje prostřednictvím N-vázané glykosylace [79].

Transport substrátů je elektrogenní, stimulovaný záporným vnitřním membránovým potenciálem. Po navázání  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$  a substrátu ve stechiometrii 1 : 1 : 1 přechází transportér do vnitřní konformace, během které uvolňuje substrát s ionty a dochází k navázání nitrobuněčného  $\text{K}^+$ . Ten ale není antiportován, jako tomu je u SERT, protože před přechodem transportéru do vnější konformace je  $\text{K}^+$  opět uvolněn. Aktivita transportéru je tedy stimulovaná nitrobuněčným  $\text{K}^+$  gradientem [68, 80]. Mimo to byl popsán také stimulační vliv nitrobuněčného kyselého pH [81].

Fyziologicky je NAT zodpovědný za zpětné vychytávání NA ze synaptické štěrbiny do presynaptických neuronů. Regulací koncentrace NA v synaptické štěrbině hraje NAT klíčovou roli v mnoha centrálních a periferních mechanismech, jako jsou behaviorální procesy nebo kardiovaskulární účinky. Jeho změněná aktivita pravděpodobně přispívá k rozvoji ADHD. NAT inhibitory se využívají při léčbě různých poruch CNS, jako je ADHD, panické a sebevražedné poruchy, deprese či Alzheimerova choroba [82]. Dysfunkce NAT se může také projevit jako onemocnění kardiovaskulárního systému. Pokles vychytávání NA je pozorován u hypertenze, diabetu, kardiomyopatie a srdečního selhání [83].

Jako ostatní monoaminové transportéry i NAT je promiskuitní a může přenášet DA se stejnou, nebo dokonce lepší kapacitou než dopaminový transportér (DAT) [81, 84]. Proto je NAT klíčovým hráčem, který reguluje intenzitu a trvání nejen signalizace NA, ale také signalizace DA, zejména v oblastech mozku, kde je DAT oproti NAT málo exprimován [85]. Také jeho afinita k přenosu 5-HT byla v literatuře již popsána [86].

Nejběžnějším typem genetické variability NAT jsou jednonukleotidové polymorfismy. Nejvýznamnější funkční důsledky způsobují především změnami v sekvenci a struktuře proteinů [83]. Molekulární studie ukázaly, že NAT je regulován prostřednictvím povrchové exprese a vnitřní katalytické aktivity transportéru. Regulační mechanismy zahrnují fosforylaci transportéru a regulované asociace akcesorních proteinů [76].

Také NAT je exprimován na MVM placenty, kde vychytává především NA a DA z mateřské cirkulace. To je důležité na začátku gestace, předtím než je plod schopný vlastní syntézy, ale ve fetálním mozku již nalezneme monoaminové receptory [87]. Navíc vychytávání NA a DA z mateřské cirkulace předchází jejich akumulaci v uterinních cévách a vazokonstričnímu působení NA [88].

### 3.2.2.3 SLC6A3 – dopaminový transportér

SLC6A3 (solute carrier family 6 member 3), jinak známý jako dopaminový transportér (DAT), je transmembránový protein, který řídí dynamiku neurotransmíse DA tím, že zprostředkovává jeho zpětné vychytávání z extracelulárního prostoru zpět do presynaptických neuronů a tím reguluje dopaminergní signalizaci. Také DAT spadá do stejné homologní rodiny symportérů SLC6, která transportuje substráty přes plazmatickou membránu v závislosti na vnějším  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$  gradientu [89], ačkoliv důkazy naznačují, že  $\text{Cl}^-$  proudy nejsou zásadní pro stechiometrii, ale jsou spíše modulační [90].

Největší distribuce DAT v mozku se nachází v dopaminergních oblastech, jako je nigrostriatální, mezolimbická a mezokortikální dráha [91]. Jen málo je známo o funkci periferně exprimovaného DAT, nicméně víme, že je exprimován v lymfocytech a monocytech/makrofázích [92].

DAT je vysokoafinitní a nízkokapacitní transportér zprostředkovávající elektrogenní a sekundárně aktivní transport DA. Po přechodu do vnitřní konformace sice dochází k vazbě  $\text{K}^+$ , ale ještě před přechodem do vnější konformace je  $\text{K}^+$  opět uvolněn. Aktivita transportéru je tedy stimulovaná nitrobuněčným  $\text{K}^+$  gradientem [68].

Dysregulovaná aktivita DAT je spojena s různými neurologickými poruchami (ADHD, Parkinsonova porucha) a neuropatologiemi [93], a proto je DAT jedním z hlavních cílů psychostimulancií, antidepresiv a léků používaných při terapii ADHD založených na posílení dopaminergní signalizace potlačením zpětného vychytávání transmitteru pomocí DAT. Navíc je cílem návykových látek včetně kokainu, amfetaminu a metamfetaminu. Tyto léky ovlivňují DAT dvěma způsoby. Některé, jako například kokain, se vážou na protein a inhibují transport, zatímco jiné, jako například amfetamin a metamfetamin, jsou transportovány a stimulují eflux nitrobuněčného DA. Oba procesy vyvolávají přetlak DA, čímž se řídí síla jeho signalizace během zneužívání drog a terapeutické léčby [92].

Také DAT může přenášet i jiné substráty v závislosti na lokalizaci [94]. Pomocí sensitivní metody digitální polymerázové řetězové reakce (ddPCR) jsme detekovali zanedbatelnou expresi DAT v placentárních homogenátech. Nicméně, na rozdíl od zbylých dvou monoaminových transportérů nehraje DAT žádnou funkční roli v placentárním transportu monoaminů a momentálně neznáme význam jeho zanedbatelné exprese. Za vychytávání DA z mateřské cirkulace jsou zodpovědné společně SERT a NAT [18].



### 3.2.3 SLC transportéry exprimované na bazální membráně

#### 3.2.3.1 SLC22A3 – transportér organických kationtů 3

SLC22A3 (solute carrier family 22 member 3), jinak známý jako transportér organických kationtů 3, je extraneurální monoaminový transportér. Označení transportéru jako extraneurálního je stále používané, nicméně je již nepřesné, jelikož exprese OCT3 v nervové tkáni a jeho funkční zapojení byly potvrzeny [95]. V lidské rodině SLC22 bylo charakterizováno šest přenašečů organických kationtů s ohledem na jejich příslušné substráty. OCT3 je kódován genem SLC22A3 [96]. S blízkými OCT1 a OCT2 je identický z 50 % a 43 % [97].

Jeho široká tkáňová distribuce byla pozorována v nadledvinách, prostatě, slinných žlázách a kosterním svalstvu [98] a v placentě [99]. Nižší, ale zřetelná exprese byla zjištěna v tukové tkáni, kostní dřeni, tlustém střevě a játrech, plicích, žaludku, tenkém střevě, srdci, varlatech, průdušnicích, štítné žláze, děloze a placentě, zatímco méně OCT3 bylo pozorováno v různých jiných orgánech, včetně mozku, ledvin a ledvinového systému, močového měchýře a v monocytech [97]. V mozku je OCT3 exprimován na gliových buňkách a neuronech, byl detekován také na presynaptické membráně [100]. OCT3 přispívá k neuronální i extraneuronální clearance monoaminů.

OCT3 je polyspecifický transportér s širokou substrátovou afinitou. Jeho substráty jsou všudypřítomné organické kationty, které se podílejí na mnoha fyziologických procesech, nebo nenabitě sloučeniny, které jsou při fyziologickém pH kladně nabitě [95]. Tyto látky vyžadují pro účinný průnik membránou nezbytné transportní systémy. Významnými substráty OCT3 jsou kreatinin, DA, adrenalin (A), NA, histamin a 5-HT [97]. Objev, že OCT3 přenáší monoaminy, i když s mnohem nižší afinitou než klasické monoaminové transportéry, otevřel nové perspektivy pro identifikaci nových mechanismů řídicích neurotransmisi a pro terapeutické inovace. Ze skupiny léčiv je důležitým substrátem metformin [97]. Nakonec v literatuře se často setkáme s použitím prototypového substrátu 1-methyl-4-fenylpyridiniia (MPP+) [101].

OCT3 se podílí na absorpci, distribuci a eliminaci těchto kationtových látek včetně endogenních aminů a xenobiotik v tkáních, jako jsou játra, ledviny a placenta. Kromě této detoxifikační funkce byla rodina OCT navržena jako zástupce uptake 2 pro odstraňování katecholaminů v periferních a neurálních tkáních, čímž hraje důležitou roli v jejich regulaci [101].

Druhem transportu je elektrogenní facilitovaná difuze nezávislá na dostupnosti H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> ani Cl<sup>-</sup>. Substráty jsou poháněny membránovým potenciálem a svým koncentračním gradientem, díky čemuž může transport probíhat obousměrně [50, 95]. Na rozdíl od neurálních vysokoafinitních, nízkokapacitních monoaminových transportérů je OCT3 systém vysokokapacitní a nízkoafinitní.

Důležitá pro rozlišení od ostatních zástupců OCT rodiny je selektivní inhibice kortikosteroidy a O-metylovanými katecholaminy [95].

Funkční exprese OCT3 byla potvrzena na fetální straně placenty [99]. V této disertační práci mj. popisují funkci tohoto transportéru ve vychytávání monoaminů z fetální cirkulace, čímž udržuje jejich správné hladiny nezbytné pro vývoj plodu [17, 18]. Exprese OCT3 se zvyšuje s průběhem těhotenství [22], což naznačuje jeho kritickou protektivní roli proti akumulaci monoaminů ve fetální cirkulaci.

### 3.3 Fyziologie monoaminů: význam v těhotenství

Monoaminy jsou důležité neurotransmitery a neuromodulátory. Řadíme sem 5-HT a katecholaminy DA, A a NA. Společně se svými receptory řídí přenos informací mezi neurony, který je realizován chemickou cestou. Jejich význam ovšem sahá daleko za tento známý účinek. Především jejich důležitost pro vývoj plodu se stala v posledních letech předmětem mnoha výzkumů.

#### 3.3.1 Serotonin

5-HT, známý jako hormon štěstí, je klíčový neurotransmitter, který moduluje životně důležité procesy v těle a mozku. U člověka hraje dvě důležité role, centrální a periferní. Funkce 5-HT v CNS jsou velmi široké a souvisejí s působením serotonergního systému na přední mozek, mozkový kmen a mozeček. Projekce z rostrálních jader raphe nuclei pomáhají regulovat teplotu, chuť k jídlu, spánkové cykly, emezi a sexuální chování. Projekce z kaudálních jader se podílejí na nocicepci a motorickém tonu. Klinicky nejvýznamnějším aspektem je role 5-HT u psychických poruch [102, 103]. Obecné paradigma popisující vztah mezi 5-HT a chováním je, že jeho hladiny pomáhají zlepšovat náladu a kontrolovat agresivní, úzkostné a impulzivní chování. Jakákoliv odchylka, která mění míru jeho signalizace, má vliv na chování jedince. Proto jsou jeho nesprávné hladiny spojovány s výskytem obsedantně kompulzivní poruchy, alkoholismu, úzkosti, afektivních poruch, mánií a depresí. Úplné pochopení serotonergních systémů v CNS je velice složité a ve většině případů nejsou příčinné mechanismy známy. Pravděpodobně nejvíce studovaným genem v problematice chování je gen pro SERT. Ten je také nejběžnějším cílem farmakoterapie, například často používaných SSRI a dalších farmakologických látek [104].

Periferně je 5-HT spojován s funkcí motorického systému, respirační stabilitou, embryonálním vývojem, srdeční frekvencí či vazokonstrikcí cév. Dále hraje zásadní roli v endokrinní sekreci, v řízení energetické rovnováhy a metabolismu, jakož i v regulaci homeostázy glukózy a metabolismu lipidů [105] a reguluje téměř všechny imunitní buňky v reakci na zánět v návaznosti na aktivaci krevních destiček [63]. I přes jeho význam v CNS se většina 5-HT nachází v gastrointestinálním traktu, kde reguluje motorické a sekreční funkce [106].

### 3.3.1.1 Syntéza serotoninu

5-HT se nachází především v serotonergní nervové síti CNS, v gastrointestinálním traktu a v krevních destičkách, kde je ukládán. Většina jeho produkce však probíhá v enterochromafinních buňkách střevní sliznice [107]. Střevo je největší endokrinní orgán v lidském těle a produkuje téměř 95 % veškerého 5-HT [106]. Tato syntéza je spouštěna v reakci na acetylcholin, neuronální stimulaci, zvýšení intraluminálního střevního tlaku nebo nízké lumenální pH střeva [108].

Periferní 5-HT syntetizovaný enterochromafinními buňkami je vychytáván a ukládán do krevních destiček [106]. Krevní destičky přijímají 5-HT z krevního oběhu prostřednictvím SERT na membráně a ukládají jej v hustých granulích působením vezikulárního monoaminového transportéru (VMAT) a tím regulují jeho periferní hladiny. Za normálních podmínek se hladina 5-HT v krvi udržuje na úrovni 1–5 ng/ml, ale při aktivaci trombocytů v reakci na zánět se může zvýšit až 1000násobně [63, 105, 108].

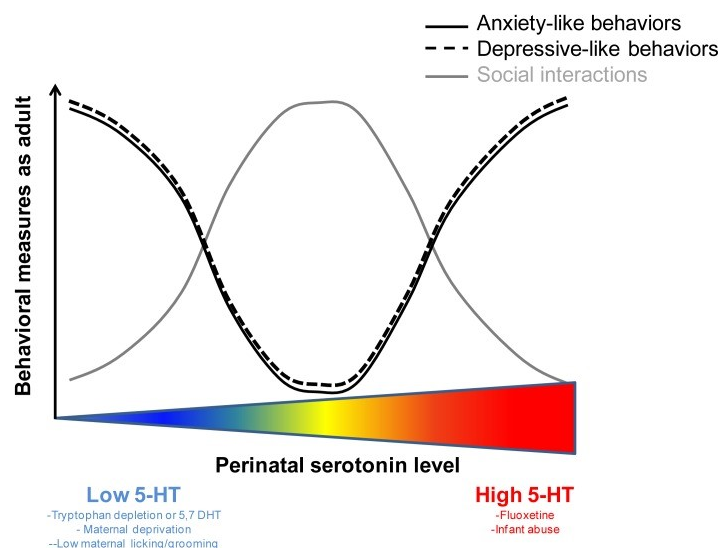
V CNS je 5-HT převážně produkován serotonergními neurony umístěnými v raphe nuclei v mozkovém kmeni. Syntéza probíhá ve dvou krocích z esenciální aminokyseliny, tryptofanu. Prvním a limitujícím enzymatickým krokem je hydroxylace TPH za vzniku 5-hydroxytryptofanu. Dalším krokem je přeměna na 5-hydroxytryptamin pomocí dekarboxylázy aromatických L-aminokyselin. 5-HT je poté transportován do vezikul pomocí VMAT, což zabraňuje jeho rychlé degradaci MAO-A. Ta rozkládá 5-HT za vzniku kyseliny 5-hydroxyindol aminoocetové (5-HIAA), která se vylučuje především močí. Z vezikulů je 5-HT uvolňován do extracelulárního prostoru v závislosti na pálení neuronů, odkud je po ukončení neurotransmise vychytáván zpět do presynaptického zakončení pomocí SERT. 5-HT nemůže procházet hematoencefalickou bariérou, a proto centrální a periferní 5-HT tvoří dva odlišné pooly. Syntéza 5-HT závisí na hladině cirkulujícího tryptofanu přijatého ze stravy, který může přecházet přes hematoencefalickou bariéru působením specifického transportéru pro aminokyseliny typu L [108].

### 3.3.1.2 Serotonin a vývoj plodu

V posledních desítkách let se zaměřila pozornost na význam 5-HT ve vývoji plodu. Jako trofického faktoru jsou jeho přiměřené hladiny v oběhu plodu během těhotenství nezbytné pro správný vývoj a programování plodu [36]. Hromadí se důkazy naznačující, že nesprávné perinatální hladiny 5-HT přispívají k rozvoji duševních onemocnění v dětství a dospělosti [109, 110] (obrázek 2). Předpokládá se, že k tomu dochází díky schopnosti 5-HT modulovat vývojové procesy, jako je proliferace a migrace buněk [111], zrání, růst axonů a synaptogeneze [110, 112]. Plasticita v perinatálním období je nezbytná pro adaptaci vyvíjejícího se mozku na měnící se prostředí, ale otevírá okno, ve kterém mohou vnější faktory narušit neuronální obvody a vést k maladaptivnímu chování. Toto perinatální časové okno je kritickým obdobím, kdy serotonergní aktivita může formovat vývoj neuronálních obvodů, a to

konkrétně emočních neuroobvodů [110]. Vedle geneticky podmíněných změn může také docházet ke změnám hladin 5-HT během vývoje působením exogenních faktorů, jakými jsou například stres [113], zánět [114] či xenobiotika [115].

Význam prenatální serotonergní signalizace potvrzují anatomické studie ukazující výskyt serotonergních neuronů ve vyvíjejícím se mozku již kolem 10.–12. embryonálního dne [116, 117]. Ačkoliv skutečné uvolňování 5-HT syntetizovaného rostoucími axony dorsal raphe v časném fetálním období nebylo nikdy jasně prokázáno, předpokládá se, že poskytují 5-HT fetálnímu přednímu mozku a plní jeho ontogenetické role [117]. Nedávno bylo dále dokázáno, že fetální přední mozek selektivně akumuluje 5-HT pocházející z placenty během počátečního růstu axonů [118]. Tyto údaje naznačují, že určité vyvíjející se okruhy ve fetálním mozku jsou během počáteční ontogeneze citlivé na placentární 5-HT, proto narušení jeho hladin ve fetoplacentární jednotce může mít hluboké a dlouhodobé důsledky pro vyvíjející se plod [9].



Obrázek 2: Vztah mezi perinatálními hladinami 5-HT a chováním v dospělosti je nelineární. Převzato od Shah a kol., 2018 [110].

*Zkratky: 5-HT – serotonin.*

Na začátku těhotenství je plod závislý na mateřském a placentárním zdroji 5-HT. Placenta totiž exprimuje TPH, což umožňuje syntézu 5-HT z tryptofanu dopraveného z mateřské cirkulace. Také samotný 5-HT může být transportován z mateřské cirkulace skrze SERT exprimovaný na MVM. Nicméně kvůli vysoké aktivitě placentární MAO-A se velká část 5-HT metabolizuje ještě v placentě na 5-HIAA a ta je vychytávána MRP2 do mateřské cirkulace (nepublikovaná data, Staud a kol., 2023) [119]. V pozdějších stádiích těhotenství je plod schopný své syntézy 5-HT z mateřského zdroje tryptofanu. Hlavní roli ve vychytávání 5-HT z fetální cirkulace do STB pak hraje OCT3 na BM [17].

### 3.3.2 Dopamin

DA byl poprvé připraven dlouho předtím, než byl objeven jeho význam jako neurotransmiteru. Původně byl syntetizován v roce 1910 kvůli silným fyziologickým účinkům, ale vzhledem k jeho relativně nízkému účinku na krevní tlak byl většinou přehlížen. Původně se předpokládalo, že DA je pouze prekurzorem A a NA nebo že je meziproduktem při odbourávání tyrosinu. Teprve později byl DA uznán jako samostatný neurotransmiter [120].

DA je katecholamin, který se uplatňuje jako neurotransmiter na periférii i v CNS. Řídí mnoho funkcí včetně motoriky, poznávání, nálady, systému odměn a ovlivňuje cirkadiánní cyklus. Je známo, že se také podílí na kognitivních funkcích skrze činnost prefrontální kůry. Také DA přispívá k synaptické plasticitě v oblastech mozku, jako je striatum a prefrontální kůra [121]. DA působí také periferně a reguluje důležité fyziologické funkce, jako je krevní tlak, metabolismus glukózy a její hladina v plazmě, endokrinní funkce, imunitní a neuroimunitní regulace [122, 123]. Periferní DA má několik různých zdrojů a lidský gastrointestinální trakt je údajně jedním z významných zdrojů [123, 124].

Je známo, že dysfunkce dopaminergních systémů je spojena s různými poruchami. Jeho zvýšené množství je pozorováno u pacientů se schizofrenií a dalšími typy psychóz [125]. Naopak ztráta DA je příčinou ztráty motorické kontroly pozorované u pacientů s Parkinsonovou chorobou [126]. Abnormální regulace uvolňování a zpětného vychytávání DA je také naznačena u Tourettova syndromu [127]. Nakonec DA je důležitý při zprostředkování sexuálních reakcí [128]. Z tohoto důvodu je dopaminergní systém cílem farmakoterapie, ale také mnohých psychostimulancií, které využívají zvýšení jeho extracelulárních hladin za účelem navození euforie [129].

#### 3.3.2.1 Syntéza dopaminu

Ačkoli je DA důležitým neurotransmiterem v mozku, podstatná část celkového množství DA v těle je produkována mimo mozek v mezenterických orgánech. Když se zaměříme na neurální tkáň, dvoustupňová biosyntéza DA probíhá v cytosolu nervových zakončení a začíná hydroxylací prekurzoru L-tyrosinu tyrosinhydroxylázou za vzniku L-3,4-dihydroxyfenylalaninu. Tyrosin se přenáší přes hematoencefalickou bariéru a v nervovém zakončení se ukládá jako tyrosin pool. Tato hydroxylace je silně regulována a závisí na tetrahydrobiopterinu jako kofaktoru, který je syntetizován z guanosintrifosfátu. Důležitá je také neobvyklá vlastnost tyrosin hydroxylázy, enzymu limitujícího rychlost syntézy DA, a to, že je inhibován svým vlastním substrátem. L-3,4-dihydroxyfenylalanin je následně přeměňován na cytosolický DA dekarboxylázou aromatických aminokyselin. Cytosolické koncentrace DA jsou obvykle poměrně nízké, protože jeho většina se nachází ve vezikulech, kam je transportován pomocí VMAT. Z vezikulů je DA následně uvolňován do extracelulárního prostoru

rychlostí úměrnou rychlosti vypalování neuronu (příchod akčního potenciálu). Po excitaci dopaminergních neuronů se synaptické vezikuly vyprazdňují do synaptické štěrbině, kde interagují s postsynaptickými DA receptory nebo regulačními presynaptickými DA autoreceptory. Aby se signalizace zastavila, musí být extracelulární DA ze synaptické štěrbině zpětně vychytáván pomocí DAT a recyklován nebo degradován metabolizujícími enzymy COMT a MAO [130].

### 3.3.2.2 Dopamin a vývoj plodu

Význam DA během těhotenství nebyl doposud podrobně studován, především ve srovnání se 5-HT. Nicméně DA hraje zásadní roli v endokrinní funkci placenty přímou interakcí s D2 receptory, která inhibuje produkci lidského placentárního laktogenu [14] a choriového gonadotropinu [13].

Navíc se DA a jeho receptory objevují ve vyvíjejícím se mozku již v embryonálním období před začátkem synaptogeneze [87, 131]. Proto se zdá pravděpodobné, že hraje DA důležitou roli ve vývoji mozku, která může být nezávislá na jeho úloze na synapsích ve zralém mozku. Aktivace dopaminových receptorů ovlivňuje proliferaci buněk frontální kůry u embryonálních myší [132, 133]. Jejich aktivace také ovlivňuje migraci GABA neuronů z bazálního předního mozku do mozkové kůry [134] a diferenciaci kortikálních a striálních neuronů [135]. DA tedy také hraje důležitou roli v buněčné proliferaci a diferenciaci. Proto je pravděpodobné, že i přechodná nerovnováha hladin DA ve vyvíjejícím se mozku se může projevit trvalými poruchami struktury a funkce mozku a vyšším výskytem neurologických onemocnění.

Na začátku těhotenství může být DA přenášen z mateřské cirkulace pomocí SERT a NAT exprimovaných na MVM [18]. Co se týče placentárního zdroje, lidská placenta neexprimuje tyrosin hydroxylázu ani DOPA dekarboxylázu, důležité enzymy pro syntézu DA z tyrosinu, který přechází přes placentární bariéru skrze transportér aminokyselin typu L1. Nicméně potkaní placenta exprimuje všechny geny pro syntézu DA z tyrosinu, což naznačuje významnou mezidruhovou variabilitu mezi dvěma hlavními druhy využívanými k placentárnímu výzkumu (nepublikovaná data, Karahoda a kol., 2023)[21]. V lidské placentě je tedy na začátku těhotenství zdroj DA transportován z mateřské cirkulace pomocí NAT a SERT, zatímco v potkaní placentě se k této cestě přidává také samotná placentární syntéza. Obě tkáně ovšem hojně exprimují degradující enzymy MAO-A a COMT, proto je většina tohoto DA rychle degradována v placentě. V pozdějších stádiích je plod schopný vlastní syntézy DA [136]. Vychytávání DA z fetální cirkulace zprostředkovává OCT3 na BM [18].

### 3.3.3 Noradrenalin

Noradrenalin je neurotransmitter poprvé identifikovaný ve 40. letech 20. století švédským fyziologem Ulfem von Eulerem. NA hraje zásadní roli v regulaci vzrušení, pozornosti, kognitivních funkcí, emocí, vnímání bolesti a stresových reakcí. Jako periferní hormon funguje také jako součást sympatického nervového systému při reakci „bojuj nebo uteč“. Při stavech stresu nebo úzkosti se uvolňuje společně s A, váže se na adrenergní receptory v celém těle a působí například na rozšíření zornic a průdušek, zvýšení srdeční frekvence a stažení cév, zvýšení sekrece reninu z ledvin a inhibici peristaltiky. Dále hraje roli v metabolických účincích, jako je stimulace glykogenolýzy a glukoneogeneze a indukce ketogeneze a lipolýzy [137]. NA se také podílí na autonomní kontrole prostřednictvím svého působení v mozgovém kmeni a jako primární neurotransmitter. Obecně platí, že receptory  $\alpha$ -1 a  $\beta$  zvyšují neurotransmisi a plasticitu, čímž podporují stimulační účinky na CNS, zatímco receptory  $\alpha$ -2 mají v CNS inhibiční účinky, například snižují uvolňování NA a snižují excitabilitu neuronů [138].

Noradrenergní systém se podílí na patogenezi některých významných neuropsychiatrických a kardiopulmonálních poruch. Příkladem může být Alzheimerova porucha [138], ADHD [139], schizofrenie, [140] deprese [141] a srdeční selhání [142].

Sympatický nervový systém a neuroendokrinní chromafinní buňky jsou primárně zodpovědné za syntézu a exocytózu NA do krevního oběhu [143].

#### 3.3.3.1 Syntéza noradrenalinu

Prekurzorem pro syntézu NA je jako u DA tyrosin. Jak již bylo zmíněno, tato aromatická aminokyselina přechází hematoencefalickou bariérou a je transportována do neuronů v presynaptickém terminálu, kde slouží jako prekurzor pro syntézu katecholaminů. Zvýšená hladina tyrosinu v CNS funguje jako spouštěč. Jelikož důležitým meziproduktem pro syntézu NA je DA, začátek syntézy probíhá tak, jak již bylo popsáno u syntézy DA. Po transportu DA do vezikulů, může být v noradrenergních neuronech, které obsahují další enzym, dopamin  $\beta$ -hydroxylázu (DBH), přeměněn DA na NA. NA se pak může uvolnit z presynaptického terminálu do synaptické štěrbině prostřednictvím exocytózy nebo se přeměnit na A v neuronech, které obsahují enzym fenyletanolamin-N-metyltransferázu (PNMT). Mimo tyrosin, fenylalanin je další aminokyselina, která může být rovněž použita pro syntézu katecholaminů poté, co je fenylalaninhydroxylázou přeměněna na tyrosin [137].

V periferním nervovém systému syntetizují NA chromafinní buňky ve dřeni nadledvin stejným způsobem, jak je uvedeno výše. Po syntéze se NA ukládá do chromafinních granulí. NA může být uvolněn do krevního oběhu nebo může být přeměněn na A pomocí PNMT [144].

### 3.3.3.2 Noradrenalin a vývoj plodu

Také NA hraje zásadní roli ve vývoji a programování plodu. NA působí jako neurotrofický faktor a interaguje s dalšími neurotransmiterovými systémy, což přispívá ke správnému vývoji mozku. Navíc ovlivňuje plasticitu nezralého mozku a podílí se na utváření a zapojování nervového systému v kritických obdobích vývoje a poruchy v tomto procesu mohou změnit vývojovou trajektorii mozku, což může způsobit dlouhodobé, a dokonce trvalé změny ve funkci mozku a v chování v pozdějším věku [145]. NA je navíc zásadním monoaminem pro kardiovaskulární systém plodu, funkci plic, mobilizaci glukózy a je klíčový v postnatální adaptaci [12, 146]. Studie využívající březí myši ukázala, že plody bez schopnosti syntézy NA a nemožnosti využití mateřského zdroje zemřeli *in utero*, a to pravděpodobně na selhání srdce [146]. Uvažuje se, že NA může mít i další funkce, včetně zprostředkování „brain sparing efektu“, tedy redistribuce krevního průtoku během hypoxie [147].

Jak již bylo zmíněno u syntézy DA, lidská placenta neexprimuje enzymy pro syntézu DA a ani DBH, která konvertuje DA na NA. Na začátku těhotenství je tedy plod závislý pouze na mateřském zdroji NA, který je přenášen skrze NAT a SERT [18], ale následně podléhá metabolické degradaci placentárními MAO-A a COMT. Lidská placenta nicméně exprimuje PNMT, který konvertuje NA na A. Jelikož potkaní placenta exprimuje veškerou mašinerii pro syntézu DA a také DBH, k mateřskému zdroji NA přispívá u potkana také placentární zdroj. V pozdějších stádiích gestace je plod závislý na své produkci NA, která je životně důležitá (nepublikovaná data, Karahoda a kol., 2023) [21, 146]. NA je následně vychytáván z fetální cirkulace pomocí OCT3 na BM [18].

Nakonec, NA je vazoaktivní látka a jeho nepřiměřené hladiny mohou souviset se změnami v uteroplacentární [88, 148] a fetoplacentární cirkulaci [149], které mohou vést k hypoxii či předčasnému porodu.

## 3.4 Deprese v těhotenství a její léčba

Depresivní onemocnění je rozšířená duševní porucha, jejíž prevalence se každým rokem zvyšuje. Celosvětově trpí depresí více než 300 milionů lidí všech věkových kategorií [150]. Předpokládá se, že do roku 2030 bude deprese druhou a třetí nejčastější příčinou zátěže nemocemi v rozvojových zemích a v zemích s nízkými příjmy [151]. Bohužel, prevalence deprese je vyšší v těhotných populacích ve srovnání s běžnou populací žen, což je často způsobeno hormonálními změnami během těhotenství [152]. Uvádí se, že až 25 % těhotných žen trpí depresí [1], z nichž 13 % je kompenzováno farmakoterapií [3]. Studie uvádí triádový vzorec incidence deprese během těhotenství zahrnující nárůst onemocnění během prvních týdnů, pokles v polovině těhotenství a další nárůst opět v posledních týdnech těhotenství [153]. Předporodní deprese je spojena také s obecně horším zdravotním stavem matky,



nedostatečnou péčí o sebe, se zvýšeným užíváním cigaret a alkoholu a se zvýšeným rizikem poporodní deprese a sebevražedných sklónů [154-156].

Patofyziologie deprese je multifaktoriální, nicméně i přes některé výhrady přetrvává tzv. monoaminová teorie zakládající se na deficitní neurotransmisi především 5-HT a NA, v menší míře DA. Z tohoto důvodu se zaměřuji v této disertační práci pouze na mechanismy relevantní pro homeostázu monoaminů.

U depresivních těhotných žen je důležité rozlišit pacientky s již předchozí diagnózou a nově diagnostikované pacientky, u kterých je nástup deprese přímo spjat s těhotenstvím. U těch mohou hrát roli kromě běžných rizikových faktorů také specifické faktory, například nechtěné těhotenství, nedostatečná sociální podpora, matka samoživitelka a v neposlední řadě hormonální změny. U žen s již diagnostikovanou depresí je pak v průběhu těhotenství zvýšené riziko relapsu, a to především v případě přerušení farmakoterapie [157, 158].

Nejběžnějšími příznaky jsou depresivní nálada, pocit viny a bezcennosti, ztráta zájmu, nízké sebevědomí, nesoustředěnost a pokles sexuální aktivity. Mimo emoční příznaky se deprese projevuje řadou somatických symptomů, například změnami apetitu, obtížemi s dostatečným spánkem, únavou či změnami hmotnosti. Některé somatické příznaky se překrývají s běžnými projevy těhotenství, což následně ztěžuje včasné odhalení deprese, a to především v prvním trimestru, kdy bývají projevy těhotenství nejvýraznější [153, 157].

Diagnóza se často stanovuje během klinických rozhovorů za použití kritérií popsaných v různých dotazníkových manuálech, kterých existuje poměrně velké množství. Pro přehled bych ráda zmínila PGQ-9 (Patient Health Questionnaire) [159], diagnostický a statistický manuál duševních poruch, čtvrté vydání, textová revize (DSM-IV-TR) [160]. Dále byly vyvinuty screeningové metody, jako je Edinburská škála poporodní deprese (EPDS) [161], která je vhodná především u velké depresivní poruchy. Mezi dalšími je také Beckův inventář deprese (Beck Depression Inventory, BDI) [162], který se ale zaměřuje spíše na somatické příznaky. I přes velké množství dostupných dotazníků by bylo vhodné vyvinout nové screeningové nástroje zohledňující komplexnost projevů těhotenské deprese, jelikož včasná diagnostika a léčba předporodní deprese je zásadní pro zdravý průběh těhotenství.

Po potvrzení diagnózy musí lékaři zahrnout pacientky do analýzy rizik a přínosů a pečlivě nastínit důsledky neléčené deprese pro matku i dítě. U lehké až středně těžké deprese by měla být nejprve navržena nefarmakologická léčba a nabídnuto doporučení k psychologovi, je-li k dispozici. U vážněji nemocných pacientek může být samotná psychoterapie nedostatečná a hlavní roli hraje farmakoterapie [157]. Správná volba terapie je kritická, jelikož nekompenzovaná deprese během těhotenství je spojena s negativním vlivem na vývoj plodu. Studie ukazují spojení s nízkou porodní

váhou, výskytem předčasných porodů, porodem mrtvého dítěte [2, 163-165], ale také se zhoršeným neurologickým vývojem dítěte, který se projevuje sníženými kognitivními funkcemi a vyšším výskytem duševních onemocnění v průběhu života [166, 167]. Navíc neléčená deprese v těhotenství zvyšuje riziko přechodu do poporodní deprese [2]. Ačkoliv depresivní onemocnění nelze v současné době vyléčit, jeho příznaky lze u většiny pacientů zvládnout vhodnými nefarmakologickými, farmakologickými přístupy nebo jejich kombinací [168]. U těhotných žen trpících depresí je hlavním cílem léčby dosažení nebo udržení euthymie matky, čímž se omezí vystavení matky i plodu škodlivým vlivům zvýšeného stresu. Ve skutečnosti značný počet těhotných žen má prospěch z antidepresivní farmakoterapie. Lékaři a pacientky se proto potýkají s rozporuplnými údaji a názory odborníků ohledně bezpečnosti antidepresivní farmakoterapie během těhotenství. Na závěr, jakékoliv nekompenzované chronické onemocnění v průběhu těhotenství může být časovanou bombou a je velmi důležité pro zdraví matky i dítěte nepodcenit zdravotní stav a snažit se najít nejlepší možná řešení.

V současné době existuje několik terapeutických skupin antidepresiv lišících se mechanismem účinku, nicméně se stejným cílem zvýšení dostupnosti neurotransmiterů 5-HT, NA, či DA na synapsích. Jejich vývoj započal zcela náhodným objevem antidepresivního účinku iproniazidu a imipraminu v 50. letech 20. století, čímž přinesl I. generaci tvořenou nyní již méně používanými tricyklickými antidepresivy a inhibitory monoaminoxidázy. Další, II. generace je pak tvořena pouze několika zástupci objevenými v mezidobí I. a III. generace. Důležitým objevem byla III. generace antidepresiv, selektivně inhibující vychytávání vždy jednoho neurotransmiteru, v 80. letech minulého století nebo začátkem 90. let, kam patří frekventovaně využívané SSRI. Po nich následovala IV. generace tvořená duálními inhibitory SNRI a dalšími „atypickými antidepresivy“, kam patří například inhibitory zpětného vychytávání DA a NA či noradrenergní a specifická serotoninergní antidepresiva [5]. Přestože k inhibici dochází okamžitě, terapeutický účinek má zpoždění 2–4 týdnů. Proto se uvažuje, že důležitějším efektem pro klinický účinek může být down regulace presynaptických inhibičních receptorů a zvýšená syntéza a vyplavování neurotransmiterů do synaptické štěrbině [5, 169]. První volbou farmakoterapie v dnešní době jsou SSRI a SNRI, a to také v průběhu těhotenství [3].

### **3.4.1 Selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu – SSRI**

Mechanismem účinku této skupiny léčiv je inhibice zpětného vychytávání 5-HT do presynaptického zakončení neuronu pomocí SERT a následné zvýšení koncentrace dostupného 5-HT v synaptické štěrbině. Klinicky užívanými látkami patřícími do této skupiny jsou citalopram, sertralin, fluoxetin, fluvoxamin a paroxetin. Nejčastějšími nežádoucími účinky jsou nauzea, diaree a insomnie, léčiva jsou nicméně obecně dobře snášena. Mimo depresi se indikují také pro léčbu úzkostných poruch či bulimie.

Hlavními metabolizujícími enzymy jsou CYP2D6, CYP2C19 a CYP3A4. Terapeuticky účinné metabolity vznikají u citalopramu, fluoxetinu a sertralinu. Biologický poločas se liší napříč skupinou, od nejkratšího fluvoxaminu (13–15 hodin) po nejdelší citalopram (36 hodin). Zajímavostí je, že, přestože dle názvu by skupina měla cílit pouze na SERT, byla zjištěna afinita také k DAT, NAT a OCT3 [23, 170-172].

### 3.4.2 Inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu – SNRI

Tato skupina antidepresiv je mechanismem účinku blízká tricyklickým antidepresivům, nicméně neinhibuje postsynaptické receptory ( $\alpha_1$ , muskarinové, histaminové), díky čemuž vykazuje výrazně menší množství nežádoucích účinků, které jsou podobné jako u SSRI. Účinnými látkami patřícími do této skupiny jsou venlafaxin, duloxetin a milnacipran. SNRI jsou indikovány pro řadu komplikací, konkrétně: úzkostné poruchy, obsedantně-kompulzivní poruchy, ADHD či chronickou neuropatickou bolest. Hlavními metabolizujícími enzymy jsou CYP2D6, CYP2C19 a CYP3A4. Účinný metabolit vzniká pouze u venlafaxinu. Biologický poločas je kratší oproti SSRI, a to 2–7 hodin u venlafaxinu a 8 hodin u milnacipranu [170, 173].

### 3.4.3 Nežádoucí účinky antidepresiv v těhotenství

Používání antidepresiv v těhotenství musí být vždy pečlivě zváženo, jelikož antidepresiva jsou silně lipofilní látky schopné přestupovat placentární bariéru a dosahovat terapeutické či toxické koncentrace také ve fetální cirkulaci [6, 174]. Obecně platí, že expozice léky může vést k narušení organogeneze a následným malformacím plodu a/nebo k narušením neurologického vývoje a programování plodu [175]. Na základě současné literární rešerše existují pochybnosti o bezpečnosti antidepresivní léčby pro plod. Podle Kievet a kol., (2013) [176] existují tři možnosti vysvětlení toxického působení antidepresiv. První uvádí výskyt abstinčního syndromu u novorozenců z důvodu rychlého poklesu plazmatické koncentrace léku po porodu [177]. Takto se projevují především léčiva s krátkým biologickým poločasem. Oproti tomu léčiva s delším biologickým poločasem mohou působit toxicky na novorozence kvůli přetrvávajícím vyšším koncentracím v oběhu. Poslední mechanismus předpokládá prenatální vliv antidepresiv na vývoj a fetální programování plodu, který se může promítnout v jakémkoli věku [176]. Bohužel, na základě jakých mechanismů antidepresiva narušují fetální vývoj a programování není známo, a proto se tímto tématem zabývám v mé disertační práci.

Rozsah možných následků po léčbě antidepresivy během těhotenství je široký. Můžeme je rozdělit na čtyři skupiny: a) strukturální malformace, b) neurologická a duševní onemocnění, c) negativní výstupy porodu a novorozence, d) hypertenzní onemocnění, konkrétně preeklampsie a fetální plicní hypertenze [172]. Pokud jde o strukturální malformace, přímý teratogenní účinek antidepresiv je stále

sporný; *in utero* expozice SSRI riziko strukturálních malformací významně nezvyšuje [178]. Jedinou výjimkou jsou dva zástupci, paroxetin a fluoxetin, jejichž podávání během prvního trimestru gravidity zvyšuje riziko srdečních a plicních malformací [179-183]. Další zástupce SSRI sertralin zvyšuje riziko malformací nervového a oběhového systému a zvyšuje prevalenci kraniosynostózy, omfalokély [181], defektů septa a komorových defektů [184]. Citalopram zvyšuje riziko muskuloskeletálních malformací v prvním trimestru [179]. Vyšší výskyt neurologických a duševních onemocnění je hlášen pro obě skupiny, SSRI a SNRI, konkrétně nalezneme spojitost s rizikem poruch autistického spektra, ADHD, depresí či epilepsie [109, 185-190]. Ve skupině negativních porodních a novorozeneckých výstupů se objevuje nízká porodní hmotnost, výskyt předčasného porodu a nižší skóre dle Apgarové [191-193]. Poslední skupina spojuje použití antidepresiv v těhotenství s výskytem hypertenzních onemocnění s multifaktoriální patofyziologií, kde hladina monoaminů může hrát roli [194-197].

Z výše uvedeného je zřejmé, že terapie antidepresivy během těhotenství musí být pečlivě zvážena s přihlédnutím k poměru benefitu a rizika pro pacientku a plod. Nicméně v situacích, kdy je pacientka dlouhodobě léčena a kompenzována antidepresivy, není vysazení farmakoterapie doporučováno. Obecně, jako u jiných chronických onemocnění, je dobré těhotenství plánovat předem s ošetřujícím lékařem. Je ovšem také nutno zdůraznit, že u mnoha žen nemá antidepresivní terapie negativní vliv na plod. Téma používání antidepresiv v těhotenství je velmi kontroverzní a vzbuzuje stále další diskuze mezi odbornou společností a bude potřeba dalších výzkumů k dosažení co nejlepšího terapeutického plánu pro těhotné ženy trpící depresí.

### **3.5 Experimentální metody pro studium vlivu antidepresiv na placentární homeostázu monoaminů**

Studium vlivu antidepresiv na vývoj a programování plodu *in vivo* u člověka je komplikované technickými a etickými faktory a proto je ve výzkumu nutno spoléhat na alternativní experimentální přístupy. V této disertační práci bylo použito široké spektrum *in vitro*, *ex vivo* a *in vivo* metod, jejichž stručný seznam uvádím níže:

#### **3.5.1 *Ex vivo* izolace membrán lidské placenty**

Pro studium transportu monoaminů a inhibičního efektu antidepresiv byly izolovány *ex vivo* mikrovilózní a bazální vezikuly z čerstvé lidské, zdravé, terminální placenty. Tato technicky a časově velmi náročná metoda umožňuje studium vychytávání monoaminů z materní i fetální cirkulace a vlivu inhibitorů (antidepresiv). Limitací může být náročná, ne vždy úspěšná izolace a tendence vezikul otevírat se při opakovaném rozmrazení/zmrazení.

### 3.5.2 *In vitro* buněčné modely

V této disertační práci byly použity také *in vitro* buněčné modely. První buněčnou linií byly MDCKII buňky transfekované P-gp, BCRP a MRP2 a pěstované v systému Transwell. Po vytvoření buněčné monovrstvy byly MDCKII buňky využity ke studiu interakcí antidepresiv se zmíněnými efluxními transportéry. Dále byla využita HRP-1 buněčná linie. U té jsme ale zjistili významnou odlišnost oproti potkaní placentě na transkripční a funkční úrovni, a proto ji ke studiu monoaminové homeostázy nedoporučujeme. *In vitro* modely jsou frekventovaně používanou technikou pro preklinický výzkum. Buněčné modely jsou citlivé na toxické působení studovaných látek a předpovědět z výsledků toxické působení u člověka je nepřesné.

### 3.5.3 *In situ* perfuze potkaní placenty

Další významnou metodou pro studium placentárního transportu je perfuze placenty. Celosvětově je používána především *ex vivo* perfuze lidské placenty. Nicméně, na naší katedře je zavedena *in situ* perfuze potkaní terminální placenty. Jedná se o unikátní a velmi technicky náročnou metodu, díky které můžeme sledovat transport látek mezi mateřskou a fetální cirkulací a také studovat placentární metabolismus. Tato metoda je skvělým preklinickým modelem ke screeningu toxicity léčiv podávaných v těhotenství. V našem výzkumu jsme pomocí této metody stanovili inhibiční potenciál antidepresiv na vychytávání monoaminů z fetální cirkulace a dále jejich interakce s placentárními efluxními transportéry. Limitací metody může být neúspěšná kanylace uterinních a umbilikálních cév a nestabilní tlak v obou cirkulacích v průběhu experimentu.

Využití lidské a potkaní placentární tkáně nám umožnilo mezidruhové srovnání placentárního transportu monoaminů, které ukázalo přenositelnost dat mezi oběma druhy.

### 3.5.4 *In vivo* chronická léčba březích potkaních samic

Další metodou použitou při vypracování této disertační práce byla chronická léčba březích potkaních samic paroxetinem. U dlouhodobých studií je zásadní správná volba administrace léčiva, která zajistí ekvivalentní dávkování a neohrozí zdraví plodu. Z tohoto důvodu jsme zvolili orálně podávané sušenky napuštěné zvolenou dávkou paroxetinu. Před začátkem léčby byly potkaní samice navyknuty na sušenky a následné podání u nich nezpůsobovalo stres. V den připuštění byla samicím měřena vaginální impedance a úspěšnost připuštění byla potvrzena následující den vaginálním stěrem k identifikaci spermií. Díky využití potkaního modelu k chronické léčbě paroxetinem jsme mohli odebrat vzorky placent, fetálních a mateřských orgánů pro další analýzu relativní genové exprese pomocí qRT-PCR a metabolickou analýzu pomocí LC/MS. Zároveň byla odebrána mateřská a fetální krev pro následné změření plasmatických hladin paroxetinu. Limitací této metody mohou být

mezidruhové rozdíly v placentární morfologii a určité vývojové odlišnosti dané jinou délkou gestace u potkana a člověka. Nicméně v našem případě jsme v předchozí studii potvrdili přenositelnost dat mezi potkaní a lidskou placentou ve studiu fetoplacentární monoaminové homeostázy.

### **3.5.5 *In vivo* Dopplerovská ultrasonografie**

Unikátní Dopplerovská ultrasonografie byla využita u projektu dlouhodobé léčby březích potkaních samic paroxetinem. 20. den březosti byly naměřeny průtoky uterinních, umbilikálních cév, arteria cerebri media a ductus venosus a vypočítán index pulzatility odrážející rezistenci měřených cév. Díky této metodě jsme mohli sledovat efekt chronicky podávaného paroxetinu na klinické úrovni.

### **3.5.6 Metody molekulární biologie**

Pro stanovení relativní genové exprese a absolutní genové exprese byly využity qRT-PCR a ddPCR a pro stanovení exprese na úrovni proteinu byl využit Western blot.

## 4. CÍLE PRÁCE

---

Tato disertační práce zkoumá na buněčné a orgánové úrovni interakce antidepresiv s monoaminovými transportními systémy a jejich vliv na placentární homeostázu 5-HT, DA a NA. Konkrétními cíli mé práce bylo:

- 1) Charakterizovat fyziologickou roli membránových transportérů, SERT, DAT, NAT a OCT3 v placentární homeostáze 5-HT, DA a NA u člověka a potkana.
- 2) U vybraných, klinicky užívaných antidepresiv (citalopram, sertralin, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin a venlafaxin) popsat jejich inhibiční efekt na placentární transport 5-HT, DA a NA přes mateřskou i fetální membránu.
- 3) Ověřit vhodnost potkaního modelu ke studiu vlivu dlouhodobé léčby paroxetinem na homeostázu 5-HT, DA a NA v placentě a v plodu.

Nad rámec stanovených cílů jsem následně sledovala vliv chronické prenatální léčby paroxetinem na homeostázu 5-HT, DA a NA v placentě a fetálním mozku a na uteroplacentární a fetoplacentární cirkulaci u potkana. Design této studie a dosažené výsledky jsou částečně prezentovány v kapitolách 5.5 a 6.

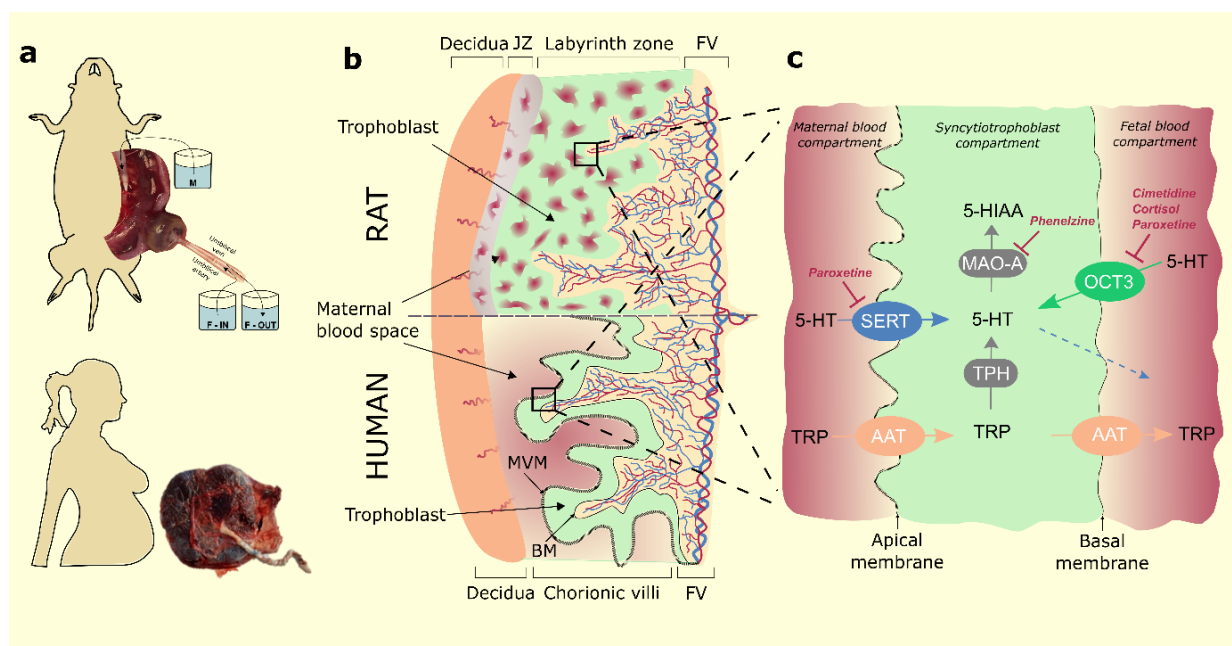
## 5. KOMENTÁŘE K JEDNOTLIVÝM PUBLIKACÍM A PODÍL KANDIDÁTKY

Tato disertační práce je komentovaným souborem čtyř prací, které byly publikovány v zahraničních časopisech s impakt faktorem. Kandidátka je první autorkou tří publikovaných prací a spoluautorkou jedné publikace a připravovaného manuskriptu.

### 5.1 Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta

Rona Karahoda, **Hana Horáčková**, Petr Kastner, Andreas Matthios, Lukáš Červený, Radim Kučera, Marian Kacerovský, Jurjen Duintjer Tebbens, Alexandre Bonnin, Cilia Abad, František Štaud

*Acta Physiologica (Oxf)*, 2020 Aug;229(4):e13478, (IF = 5.87/Q1/D1, AIS = 1.212/Q1)



Obrázek 3. Grafický abstrakt zobrazující homeostázu 5-HT v potkaní a lidské placentě (C) a morfologické mezidruhové rozdíly v placentárních modelech použitých ve studii 5.1 (A, B).

**Zkratky:** 5-HIAA – 5-hydroxyindol aminoctová kyselina, 5-HT – serotonin, AAT – transportér aminokyselin, BM – bazální membrána, FV – fetal vessels (fetální cévy), JZ – junctional zone (spongiotrofoblast), MAO-A – monoaminoxidáza A, MVM – mikrovilózní membrána, OCT3 – transportér organických kationtů 3, SERT – serotoninový transportér, TPH – tryptofan hydroxyláza, TRP – tryptofan.

5-HT je klíčový neuromodulátor v mozku a jeho správné koncentrace ve fetální cirkulaci jsou zásadní pro vývoj plodu. Hlavní zdroj na začátku těhotenství je mateřského a placentárního původu. V pozdějších fázích těhotenství si však plod vyrábí vlastní 5-HT z tryptofanu pocházejícího od matky.



Dosavadní studie fetoplacentární homeostázy 5-HT mají rozporuplné výsledky a neposkytují žádné informace o clearance 5-HT z fetální cirkulace. Naše studie přináší nový model homeostázy 5-HT v terminální lidské a potkaní placentě.

V této publikaci za použití *in situ* a *ex vivo* metod potkaní a lidské placenty ukazujeme, že transport 5-HT z mateřské do fetální cirkulace je zanedbatelný na konci těhotenství z důvodu vysokého placentárního metabolismu zprostředkovaného MAO-A. Nicméně naše výsledky potvrzují rapidní maternofetální přestup tryptofanu a na něm závislý nárůst 5-HT ve fetální cirkulaci. Dále jako první odhalujeme ochrannou roli OCT3 před toxickou akumulací 5-HT ve fetální cirkulaci. Zajímavým zjištěním je, že vychytávání 5-HT z fetální cirkulace zprostředkované OCT3 je závislé na pohlaví plodu, kdy samčí plody vykazují vyšší clearance 5-HT ve srovnání se samičími plody. Tento transportní mechanismus je satureovatelný a inhibovatelný endogenními a exogenními látkami, jeho funkce může být tedy narušena suprafyziologickými koncentracemi substrátů či podáváním léčiv cílících na OCT3.

Na základě těchto zjištění přicházíme s novým modelem homeostázy 5-HT v terminální placentě, ve které hraje hlavní roli synchronní aktivita SERT, OCT3 a MAO-A. Tento systém však může být narušen inhibičními molekulami OCT3, jako jsou glukokortikoidy nebo antidepresiva (obrázek 3). Naše zjištění otevírají nové možnosti zkoumání dříve netušených/nevysvětlených komplikací během těhotenství, včetně prenatálního nadbytku glukokortikoidů a farmakoterapeutických rizik léčby těhotných žen inhibitory OCT3.

#### **Podíl kandidátky na publikaci:**

- Provádění experimentů, konkrétně:
  - Podíl na *in situ* perfuzích terminální potkaní placenty
  - Podíl na *ex vivo* izolacích placentárních membránových vezikul z terminální lidské placenty
  - Podíl na izolaci RNA
- Podíl na analýze a interpretaci výsledků

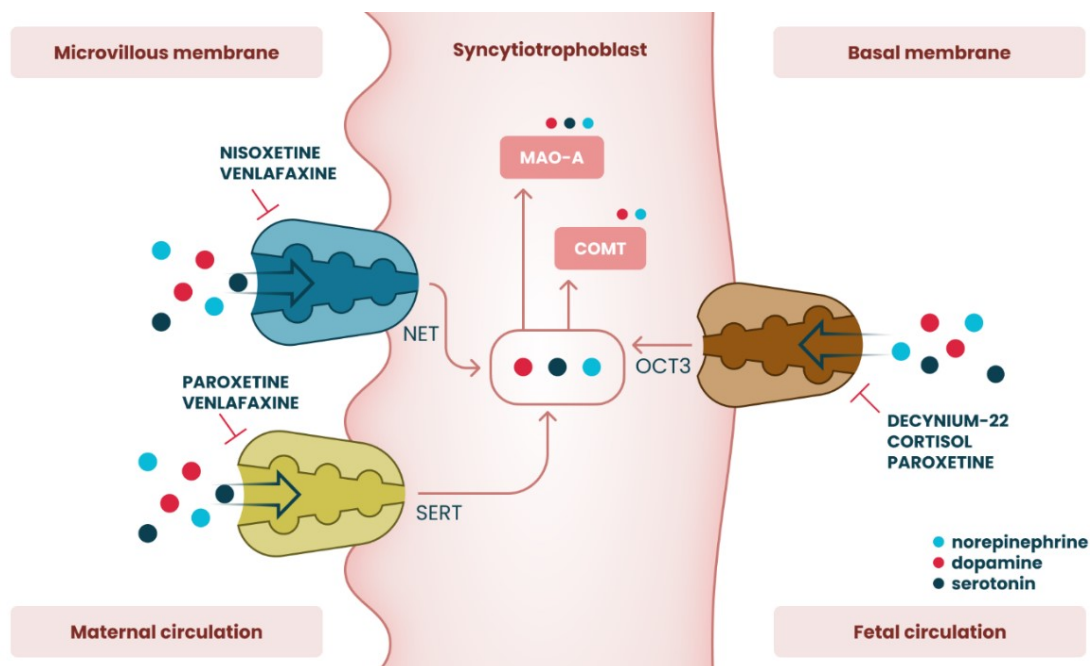
Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32311818/>

Publikace v tištěné formě je uvedena jako příloha číslo 1.

## 5.2 Functional characterization of dopamine and norepinephrine transport across the apical and basal plasma membranes of the human placental syncytiotrophoblast

**Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Veronika Váchalova, Helena Turková, Cilia Abad, František Štaud

*Scientific Reports*, (2022) Jul 8;12(1):11603, (IF = 4.997/Q2, AIS = 1.208/Q2)



Obrázek 4: Grafický abstrakt zobrazuje transportní systémy 5-HT, DA a NA v STB popsané ve studii 5.2.

*Zkratky: COMT – catechol-O-metyltransferáza, MAO-A – monoaminoxidáza A, NET – norepinephrine transporter (NAT), SERT – serotoninový transportér, OCT3 – transportér organických kationtů 3.*

Lidská placenta představuje jedinečnou non-neuronální tkáň schopnou exprese monoaminových transportérů s patofyziologickým významem v prenatálním období. Monoaminy (5-HT, DA, NA) jsou klíčové neuromodulátory pro správnou funkci placenty a vývoj plodu, včetně buněčné proliferace, diferenciace a neuronální migrace. Hromadí se důkazy naznačující, že i přechodné narušení fetoplacentární monoaminové homeostázy během těhotenství může vést k trvalým změnám ve struktuře a funkci mozku plodu, které se promítají až do dospělosti. Navzdory zvyšující se fetální produkci monoaminů směrem k termínu porodu byl přenos DA a NA přes placentární STB jen velmi málo zkoumán, a proto jsou výsledky této studie velmi aktuální.

S využitím metody *ex vivo* izolovaných membrán z lidské terminální placenty jsme v této studii vymezili transportní mechanismy podílející se na přechodu DA a NA přes MVM a BM. Dokázali jsme, že placentární vychytávání DA a NA z mateřské cirkulace je zprostředkováno vysokoafinitními

a nízkokapacitními transportéry SERT a NAT. Expres transportéru DAT v lidské placentě byla zanedbatelná a na základě výsledků z funkčních studií můžeme potvrdit, že se DAT nepodílí na vychytávání monoaminů v placentární tkáni. Na BM bylo placentární vychytávání obou monoaminů řízeno transportérem OCT3, který zprostředkovává vychytávání také 5-HT z fetální cirkulace. Placentární clearance monoaminů je tedy primárně zprostředkována mechanismy závislými na transportéru. Nicméně důkazy naznačují, že monoaminové transportéry jsou promiskuitní a je tedy logické předpokládat možnou substrátovou kompetici na MVM a BM. Proto jsme se zaměřili pomocí *ex vivo* izolovaných membrán z lidské terminální placenty také na interakce mezi 5-HT, DA a NA. Výsledky potvrdili, že placentární monoaminové transportéry sdílí afinitu ke všem studovaným substrátům. Nicméně námi vypočítané poloviční maximální inhibiční koncentrace (IC50) jsou výrazně vyšší než fyziologické plazmatické koncentrace monoaminů u zdravých těhotných žen. Přesto monoaminové interakce mohou být významné u placentárních patologií, jako je preeklampsie spojená se změnou expresí monoaminových transportérů a zvýšenými plazmatickými koncentracemi monoaminů. Navíc inhibice SERT, NAT a OCT3 endogenními a exogenními látkami může ohrozit hladiny monoaminů ve fetoplacentární jednotce a přispět k nepříznivému vlivu na vývoj a programování plodu. Naše zjištění tak poskytují vhled do fyziologických aspektů transportu DA a NA přes mateřskou i fetální stranu placenty (obrázek 4). Vzhledem k tomu, že monoaminové transportéry představují cíle pro několik neuroaktivních léčiv, jako jsou antidepresiva, jsou naše zjištění farmakologicky relevantní pro zajištění bezpečnosti užívání léčiv během těhotenství.

#### **Podíl kandidátky na publikaci:**

- Provádění experimentů, konkrétně:
  - *Ex vivo* izolace placentárních membránových vezikul z terminální lidské placenty
  - Akumulační studie s využitím *ex vivo* izolovaných placentárních membránových vezikul z terminální lidské placenty
  - Izolace RNA, reverzní transkripce
  - ddPCR analýza
- Kompletní analýza dat, interpretace a vizualizace výsledků
- Příprava manuskriptu

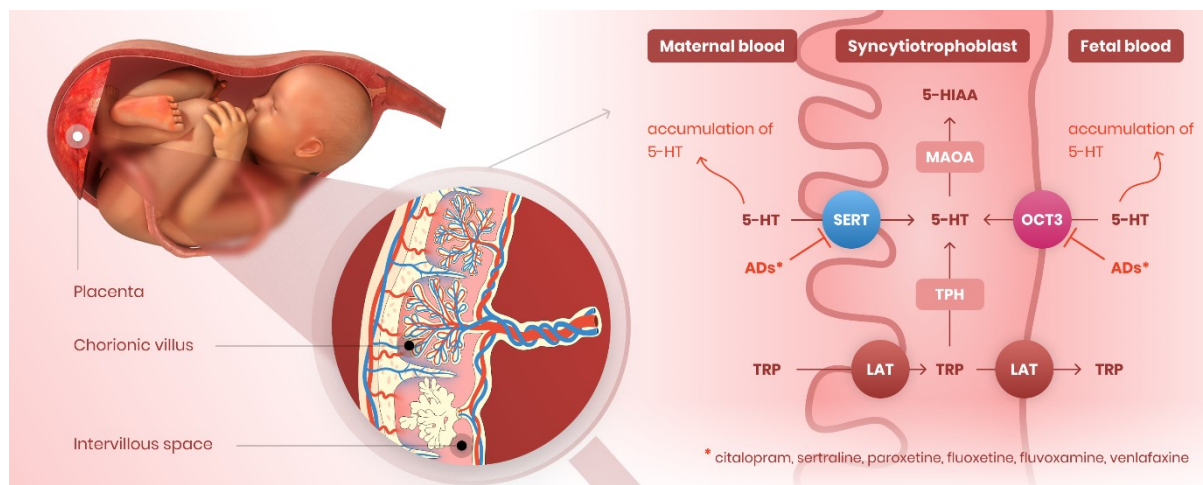
Práce je dostupná online: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-15790-7>

Publikace v tištěné formě je uvedena jako příloha číslo 2.

### 5.3 Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives

**Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Lukáš Červený, Veronika Váchalová, Ronja Ebner, Cilia Abad, František Štaud

*Pharmaceutics*, 2021 Aug 20;13(8):1306, (IF = 6.321/Q1; AIS = 0.903/Q2)



Obrázek 5: Grafický abstrakt zobrazuje, jakým způsobem narušují studovaná antidepresiva placentární homeostázu 5-HT.

**Zkratky:** 5-HIAA – 5-hydroxyindol aminoocetová kyselina, 5-HT – serotonin, ADs – antidepresiva, LAT – transportér aminokyselin, MAOA – monoaminoxidáza A, OCT3 – transportér organických kationtů 3, SERT – serotoninový transportér, TPH – tryptofan hydroxyláza, TRP – tryptofan.

Deprese je rozšířené onemocnění, které postihuje až 25 % těhotných žen. Proto jsou více jak 13 % z nich předepisována antidepresiva, především SSRI a SNRI. Základní mechanismus, kterým antidepresiva inhibují vychytávání 5-HT na synapsích, je dobře popsán. Hlavním cílem je kompetitivní inhibice SERT a NAT, vysokoafinitních a nízkokapacitních transportérů. V poslední době se ovšem ukázalo, že ke klinickému účinku může přispívat také inhibice OCT3 transportéru, polyspecifického vysokokapacitního transportéru. V naší předchozí studii jsme prokázali, že lidská i potkaní placenta vychytává 5-HT z mateřské cirkulace prostřednictvím SERT transportéru a z fetální cirkulace prostřednictvím OCT3 transportéru. Potenciální schopnost vybraných antidepresiv inhibovat funkci placentárního SERT a OCT3 a význam této inhibice nebyly doposud předmětem žádného výzkumu. V této studii jsme předpokládali, že antidepresiva mohou zasahovat do prenatální homeostázy 5-HT tím, že ovlivňují jeho placentární clearance jak na mateřské, tak na fetální straně placenty, což by následně vedlo k suboptimální koncentraci 5-HT ve fetoplacentární jednotce.

K ověření této hypotézy jsme použili *ex vivo* membránové vezikuly izolované z lidských terminálních placent a hodnotili jsme účinky v těhotenství běžně užívaných SSRI (paroxetinu, citalopramu, fluoxetinu, fluvoxaminu, sertralínu) a jednoho SNRI (venlafaxinu) na vychytávání 5-HT přes MVM a BM. Dále za použití *in situ* umbilikální perfuze potkaní terminální placenty jsme hodnotili účinky těchto léčiv na placentární extrakci 5-HT z fetální cirkulace se zaměřením na rozdíly mezi pohlavími plodu.

Všechna testovaná antidepresiva významně inhibovala SERT a OCT3 zprostředkované vychytávání 5-HT v závislosti na dávce. Vypočítané IC50 byly v rozmezí terapeutických plazmatických koncentrací. Pomocí modelů *in vitro* a *in situ* jsme dále prokázali, že placentární efluxní transportéry nesnižují transport antidepresiv z matky k plodu a tím potvrdili, že IC50 hodnoty jsou terapeuticky dosažitelné také ve fetální cirkulaci.

V této publikaci jako první popisujeme mechanismus, jakým antidepresiva ovlivňují homeostázu 5-HT v placentě, pokud jsou podávána v terapeutických dávkách (obrázek 5). Inhibice vychytávání 5-HT může vést k jeho akumulaci v obou cirkulacích, kde 5-HT, jako vazoaktivní látka, může působit jako vazokonstriktor. Zajímavým zjištěním je, že účinek antidepresiv na vychytávání 5-HT z fetální cirkulace pomocí OCT3 transportéru u potkanů byl závislý na pohlaví. Samci byli více náchylní k inhibici antidepresivy než samice. Vzhledem k tomu, že správné fetální programování vyžaduje optimální hladinu 5-HT ve fetoplacentární jednotce po celou dobu těhotenství, inhibice SERT-/OCT3 zprostředkovaného vychytávání 5-HT může být jedním z mechanismů podílejících se na vzniku hlášených negativních výsledků po užívání antidepresiv v průběhu těhotenství.

#### **Podíl kandidátky na publikaci:**

- Provádění experimentů, konkrétně:
  - *In situ* duální a umbilikální perfuze terminální potkaní placenty
  - *Ex vivo* izolace placentárních membránových vezikul z terminální lidské placenty
  - Inhibiční studie s využitím *ex vivo* izolovaných placentárních membránových vezikul z terminální lidské placenty
  - RNA izolace, reverzní transkripce
  - ddPCR analýza
  - Western blot
  - Hodnocení peroxidace lipidů v potkaních placentárních homogenátech
  - *In vitro* buněčné experimenty s transfekovanými MDCKII buňkami
  
- Kompletní analýza dat, interpretace a vizualizace výsledků
- Příprava manuskriptu

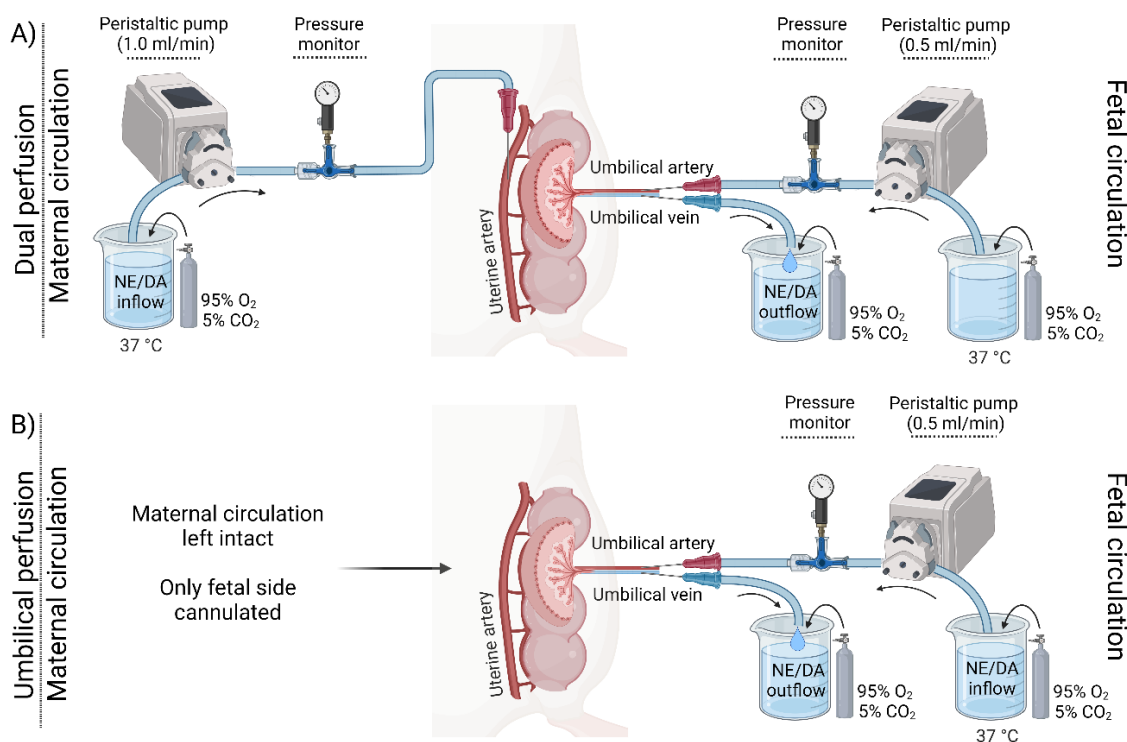
Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34452265/>

Publikace v tištěné formě je uvedena jako příloha číslo 3.

## 5.4 Perfused rat term placenta as a preclinical model to investigate placental dopamine and norepinephrine transport

**Hana Horáčková**, Veronika Váchalová, Cilia Abad, Rona Karahoda, František Štaud

*Clinical Science (London)*, 2023 Jan 4;CS20220726, (IF = 6.876/Q1, AIS = 1.458/Q1)



Obrázek 6: Technické schéma duální perfuze (A) a umbilikální perfuze (B) potkaní placenty, dvou stěžejních metod použitých ve studii 5.4. Vytvořeno pomocí BioRender.com.

Zkratky: DA – dopamin, NE – norepinephrine (NA).

Placenta představuje non-neuronální orgán schopný přenášet a metabolizovat monoaminy. Vzhledem k tomu, že se tyto bioaktivní molekuly podílejí na mnoha procesech nezbytných pro fyziologii placenty a plodu, může jakákoli nerovnováha v jejich hladinách během těhotenství ovlivnit vývoj mozku plodu a následně vést k vyššímu riziku poruch chování v dětství a dospělosti. Vzhledem k tomu, že výzkum na těhotných ženách představuje značná etická omezení, jsou ke studiu monoaminové homeostázy jako mechanismu podílejícího se na programování plodu hojně využívány zvířecí modely. Ačkoli je potkan nejčastěji používaným zvířecím modelem v neurovývojových a behaviorálních studiích, transport DA a NA přes placentu potkana nebyl dosud charakterizován. Navíc není dostatečně stanovena porovnatelnost s lidským placentárním monoaminovým systémem, a tedy není zřejmá mezidruhová

přenositelnost dat. Proto tato studie přináší pohled na transplacentární dynamiku monoaminů mezi mateřským a fetálním oběhem v potkaní terminální placentě.

Naše výsledky získané pomocí *in situ* duálních perfuzí potkaní terminální placenty ukazují, že transport NA z matky do plodu je menší než 4 % v důsledku vysokého metabolismu v trofoblastu. Naproti tomu transport DA z matky do plodu přesahuje 25 %, pravděpodobně díky zapojení pasivního transportu přes membránu. Kromě toho jsme prokázali pomocí *in situ* umbilikálních perfuzí potkaní terminální placenty vysokou clearance NA a DA z fetálního oběhu zprostředkovanou OCT3 transportérem, a to v průměru 50 %. Tyto výsledky odpovídají na transkripční a funkční úrovni našim dříve publikovaným údajům měřených v lidské placentě. Na rozdíl od potkaní placentární tkáně se *in vitro* výsledky z buněčné linie HRP-1 (populace trofoendodermálních kmenových buněk odvozených z potkaní placenty) výrazně liší v genové expresi a funkčních vlastnostech, a proto její použití, na rozdíl od *in situ* perfuze potkaní placenty, nedoporučujeme ve výzkumu monoaminů. Pro jednodušší pochopení technického provedení duálních a umbilikálních perfuzí potkaní placenty je vložen obrázek 6.

Celkově v této studii předkládáme transkripční a funkční důkazy, že potkaní placentární tkáň a metoda *in situ* perfuze potkaní placenty představuje vhodný model pro studium vlivu exogenních látek na homeostázu monoaminů v placentě.

#### **Podíl kandidátky na publikaci:**

- Provádění experimentů, konkrétně:
  - *In vitro* buněčné experimenty s HRP-1 buňkami
  - *In situ* duální a umbilikální perfuze terminální potkaní placenty
  - RNA izolace, reverzní transkripce
  - ddPCR analýza
- Kompletní analýza dat, interpretace a vizualizace výsledků
- Příprava manuskriptu

Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36598165/>

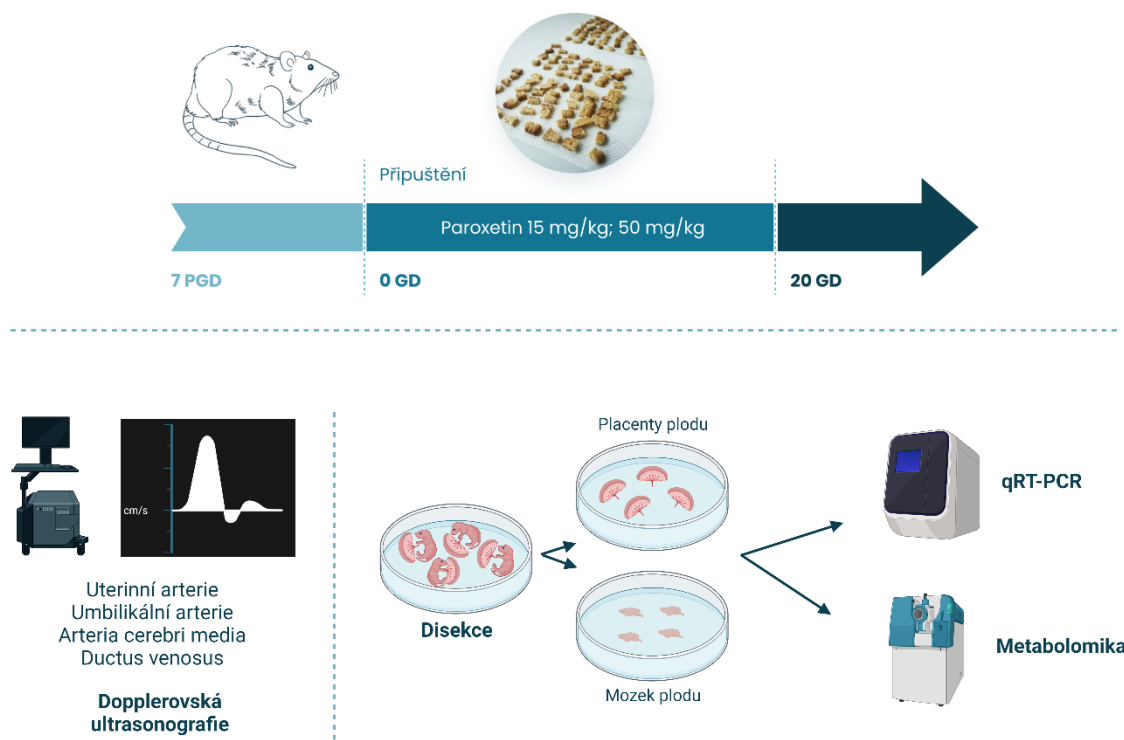
Publikace v tištěné formě je uvedena jako příloha číslo 4.



## 5.5 Effects of prenatal paroxetine treatment on monoamine homeostasis in the rat fetoplacental unit

**Hana Horáčková**, Jaroslav Stráník, Cilia Abad, Rona Karahoda, Mireia Vinas, Eva Cífková, Veronika Váchalová, Kasin Anandam, Ramon Portillo, Daniel Heblík, Morgane Robles, Miroslav Lísa, Ivana Kacerovská Musilová, Martin Štěrba, František Štaud

Výsledky studie jsou v současné době připravovány pro zaslání do časopisu



Obrázek 7: Schéma dlouhodobé léčby březích potkaních samic paroxetinem a přehled použitých metod. Vytvořeno pomocí BioRender.com.

*Zkratky: GD – gestační den, PGD – pregestační den, qRT-PCR – kvantitativní PCR reverzní transkripce.*

V našich předchozích studiích [18, 198] jsme paroxetin identifikovali jako nejsilnější inhibitor placentárního vychytávání monoaminů z mateřské i fetální cirkulace. Vzhledem ke klíčové roli monoaminů ve funkci placenty a vývoji plodu, přechodné narušení jejich homeostázy může ovlivnit neurologický vývoj plodu, promítající se do dospělosti. Monoaminy navíc působí jako vazomotorní látky, proto jejich akumulace může vést k vazokonstrikci a změně placentární perfuze. Proto jsme v této studii zkoumali účinky chronické léčby březích potkaních samic paroxetinem na placentární perfuzi a homeostázu monoaminů v placentě a mozku plodu.



Březím potkaním samicím kmene Wistar byl po celou dobu březosti podáván orálně paroxetin (15 mg/kg nebo 50 mg/kg). 20. gestační den byly pomocí Dopplerovské ultrasonografie změřeny průtoky uterinní arterie, umbilikální arterie, arteria cerebri media a ductus venosus. Dále byla použita qRT-PCR ke zjištění změn relativní genové exprese v placentě a mozku plodu mezi skupinami. Nakonec pomocí LC/MS byla provedena metabolická analýza polárních metabolitů ve vzorcích placent a fetálních mozků (obrázek 7).

Chronická léčba paroxetinem ovlivnila uterinní a umbilikální perfuzi, prezentovanou zvýšeným indexem pulzatility, indikujícím vyšší rezistenci těchto cév. Ta může být způsobena akumulací monoaminů v krevním řečišti společně s predominancí nevětvícího typu placentární angiogeneze, daného nižší expresí vaskulárního endotelového růstového faktoru na úrovni mRNA v placentě. Dále léčené skupiny vykazovaly významně nižší placentární a fetální hmotnost. Nakonec byly po léčbě paroxetinem pozorovány významné změny v relativní genové expresi důležitých transportérů a enzymů podílejících se na homeostáze monoaminů v placentě a fetálním mozku.

V této práci jsme prokázali, že chronická léčba paroxetinem během těhotenství má vliv na homeostázu monoaminů ve fetoplacentární jednotce. Léčba paroxetinem navíc vedla ke zvýšenému odporu uterinní a umbilikální cirkulace, která může způsobovat placentární malperfuzi a může se projevit na klinické úrovni v průběhu těhotenství. Naše výsledky tak zdůrazňují bezpečnostní obavy týkající se léčby antidepresivy během těhotenství a potvrzují spojení hlášených nežádoucích efektů antidepresivní léčby s dysregulací homeostázy monoaminů ve fetoplacentární jednotce.

**Podíl kandidátky na publikaci:**

- Provádění experimentů, konkrétně:
  - Dlouhodobá léčba březích potkaních samic paroxetinem
  - Disekce placent a fetálních mozků, odběr mateřské a fetální krve, příprava vzorků
  - Asistence při Dopplerovské ultrasonografii
  - Podíl na RNA izolacích
  - Podíl na qRT-PCR
- Vyhodnocování dat, interpretace a vizualizace výsledků
- Příprava manuskriptu

## 6. ZÁVĚR

---

Antidepresiva, zejména SSRI a SNRI, představují běžně užívanou farmakoterapii během těhotenství. Bohužel jejich používání představuje zvýšené riziko pro fetální vývoj a budí stále více kontroverze. Na rozdíl od přibývajících počtu epidemiologických studií nebyla zatím věnována dostatečná pozornost výzkumu základních mechanismů, kterými mohou antidepresiva způsobovat hlášené negativní výsledky. Nicméně bez jejich porozumění jim nemůžeme zabránit ani nemůžeme zavádět cílené intervence proti toxickému působení této skupiny léčiv. Jelikož antidepresivní terapie kontroluje dostupnost 5-HT, DA a NA, zabývám se ve své disertační práci placentární homeostázou těchto tří monoaminů a mechanismy, kterými antidepresiva jejich homeostázu narušují.

Prvním krokem mého výzkumu bylo popsat fyziologickou homeostázu 5-HT, DA a NA v placentě. Doposud nejvíce zkoumaným monoaminem je jednoznačně 5-HT. Avšak dosavadní výsledky studií neposkytovaly ucelenou představu o jeho transportu skrze placentární bariéru a nezaměřovaly se na transport skrze BM. V mé spoluautorské publikaci (Karahoda, Horackova a kol., 2020, příloha 1) [17] jsme se proto zaměřili na nedostatky ve výzkumu 5-HT a přinesli ucelenou studii popisující jeho maternofetální transport a vychytávání z fetální cirkulace. V této studii potvrzujeme kritickou roli placentárního metabolismu 5-HT pomocí MAO-A, díky které 5-HT z mateřské cirkulace nepřestupuje k plodu v době termínu porodu, což potvrzuje závislost plodu na vlastní syntéze 5-HT z mateřského tryptofanu. Jako první popisujeme OCT3 jako hlavní mechanismus, kterým je 5-HT vychytáván z fetální cirkulace, čímž udržuje jeho přesné koncentrace pro správný vývoj plodu. Díky použití paroxetinu jako inhibitoru SERT a OCT3 nám tato studie navíc přináší nový cíl antidepresiv pro další výzkum.

Otázkou ovšem zůstávalo, jakými transportními mechanismy přechází placentu DA a NA. Proto jsem se v další studii (Horackova a kol., 2022, příloha 2) [18] zaměřila na výzkum homeostázy těchto dvou dalších monoaminů v lidské placentě. Zjištěním této studie bylo, že do transportu DA a NA na MVM jsou zapojeny dva transportéry současně, SERT a NAT, a na BM sdílí monoaminy afinitu k OCT3. Funkční zapojení DAT v placentární tkáni bylo vyloučeno. Jelikož monoaminy mají do určité míry afinitu ke všem zmíněným transportérům, provedli jsme také experimenty ke zjištění jejich vzájemných interakcí a ty potvrdily, že 5-HT, DA a NA jsou substráty placentárních SERT, NAT a OCT3 a že tyto transportéry jsou tedy naprosto zásadními pro udržení jejich správných hladin ve fetoplacentární jednotce. V této studii jsme použili jako inhibitory SERT, NAT a OCT3 paroxetin a venlafaxin. Jelikož i v této studii paroxetin a venlafaxin významně inhibovaly vychytávání DA a NA na MVM a BM, získali jsme finální potvrzení o afinitě antidepresiv k placentárním monoaminovým transportérům.

Proto jsme se v dalším výzkumném projektu zaměřili na inhibiční vliv šesti běžně používaných antidepresiv v těhotenství (paroxetinu, citalopramu, fluoxetinu, fluvoxaminu, sertralinu a venlafaxinu) na transport 5-HT přes mikrovilózní i bazální membránu lidské a potkaní placenty (Horackova a kol., 2021, příloha 3) [198]. 5-HT byl vybrán, jelikož vliv antidepresiv na jeho vychytávání vykazoval ve srovnání s DA a NA nejsilnější efekt. Pomocí experimentů koncentrační inhibiční závislosti na MVM a BM izolovaných z lidské placenty jsme vypočítali IC50 pro všechna studovaná antidepresiva. Hodnoty IC50 vykazovaly silnou inhibici vychytávání 5-HT z mateřské a fetální cirkulace, dosažitelnou běžnými terapeutickými dávkami antidepresiv. Silná inhibice vychytávání 5-HT z fetální cirkulace všemi studovanými antidepresivy byla rovněž potvrzena u potkana. Velice zajímavým výsledkem této studie bylo zjištění, že inhibice placentárního OCT3 všemi antidepresivy u potkanů byla výraznější u samců než u samic. To může alespoň částečně vysvětlovat rozdíly v závislosti na pohlaví plodu pozorované ve studiích behaviorálních účinků prenatální léčby antidepresivy [199] a vyšší riziko neurovývojových poruch po prenatálním užívání antidepresiv pozorované u mužů [200]. Výsledky získané na lidských placentách jsme nemohli rozdělit dle pohlaví plodu, kvůli nedostatečnému počtu biologických replikátů. Tato studie přinesla dosud neznámý mechanismus, jakým mohou antidepresiva narušovat fetoplacentární homeostázu 5-HT.

Limitací této studie bezpochyby bylo sledování pouze akutního efektu antidepresiv, léčiv, která jsou podávána výhradně chronicky. Proto jsme v závislosti na jejich výsledcích připravili dlouhodobou léčbu samic potkana nejsilnějším inhibitorem, paroxetinem. Nicméně před zahájením tohoto komplexního projektu bylo zapotřebí stanovit přenositelnost dat z potkaního modelu na člověka. Zvířecí modely jsou první volbou pro behaviorální a neurovývojové studie, které jsou spojeny s onemocněními, jejichž patofyziologie z velké míry zasahuje do monoaminové homeostázy. Proto jsme chtěli v dalším projektu stanovit, zda transport DA a NA probíhá z transkripčního a funkčního hlediska podobně v potkaní a lidské placentě (Horackova a kol., 2023, příloha 4) [201]. Naše výsledky potvrdily vhodnost použití potkaního modelu pro dlouhodobé studium efektu antidepresiv na monoaminovou homeostázu. Navíc v závislosti na výsledcích této studie doporučujeme *in situ* potkaní perfuze jako vhodný preklinický model pro včasný screening toxicity farmakoterapie podávané v průběhu těhotenství.

Po potvrzení vhodnosti potkaního modelu ke studiu vlivu dlouhodobé léčby paroxetinem na homeostázu 5-HT, DA a NA v placentě a fetálním mozku a na uteroplacentární a fetoplacentární cirkulaci jsme s tímto projektem mohli začít. Jelikož tento projekt je v současné době ve fázi přípravy manuskriptu, ráda bych jeho metodiku a výsledky přiblížila v této části závěru. Březím samicím potkana kmene Wistar jsme podávali paroxetin ve dvou dávkách (15 mg/kg, 50 mg/kg) orálně ve formě námi připravené sušenky. Tento typ administrace nezpůsobil samicím žádný stres, který by kromě paroxetinu mohl také mít vliv na námi zkoumané výsledky. Léčba začala 7 dnů před začátkem gestace

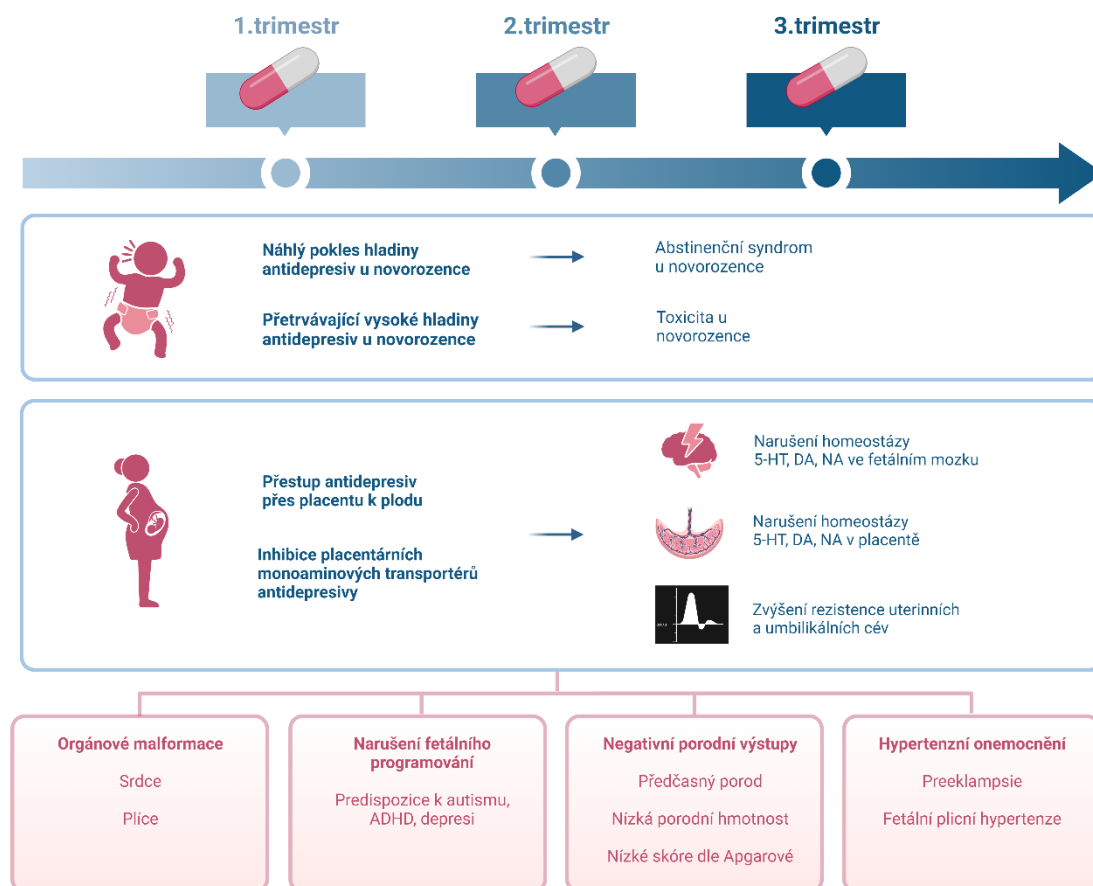
a trvala po celou dobu březosti. Dvacátý den březosti byly samice uspány a ve spolupráci s gynekology z Fakultní nemocnice Hradec Králové byla změřena Dopplerovská ultrasonografie uterinních a umbilikálních cév a dále arteria cerebri media a ductus venosus. Díky této unikátní zobrazovací metodě jsme získali hodnoty maximální průtokové rychlosti a indexu pulzatility, které odrážejí rezistenci naměřených cév. Dle naší hypotézy by totiž paroxetin mohl vést k lokální akumulaci vazokonstrikci v placentární cirkulaci. Naše výsledky z Dopplerovské ultrasonografie naznačují zvýšenou rezistenci uterinních a umbilikálních cév bez efektu na arteria cerebri media a ductus venosus po podávání paroxetinu v dávce 15 mg/kg. Dále vypočítaný cerebro-placentární poměr nepotvrdil zapojení „brain-sparing“ efektu. Pro lepší porozumění placentární angiogeneze po podávání paroxetinu jsme následně analyzovali relativní expresi dvou zásadních faktorů, vaskulárního endotelového růstového faktoru a hypoxií indukovaného faktoru. Signifikantní down regulace exprese vaskulárního endotelového růstového faktoru a hypoxií indukovaného faktoru na úrovni mRNA v placentě u obou dávkových schémat naznačuje převládající nevětvicí typ angiogeneze na úkor větvicího typu [202], pravděpodobně v důsledku placentární hyperoxie. Nedostatečné větvení cév v placentární tkáni má za následek zvýšenou rezistenci cév odpovídající našim výsledkům z Dopplerovské ultrasonografie. Navíc zvýšený odpor cévního řečiště může snižovat transport kyslíku k plodu, na který placenta reaguje adaptačně zvýšením gradientu kyslíku vedoucím k již zmíněné placentární hyperoxii [203].

Kromě Dopplerovské ultrasonografie bylo další částí tohoto projektu studium změn v expresi genů zapojených do homeostázy 5-HT, DA a NA (*Sert, Net, Dat, Oct3, Tph1, Tph2, tyrosin hydroxyláza, dopamin dekarboxyláza, Dbh, Pnmt, transportér pro aminokyseliny typu L1, transportér pro aminokyseliny typu L2, MaoA, MaoB, Comt*) v placentě a fetálním mozku. Naše výsledky ukazují signifikantní down regulaci všech genů zapojených do homeostázy monoaminů v placentě u 15 mg/kg i 50 mg/kg a up regulaci *Dbh* a *Lat1* ve fetálním mozku pouze u 50 mg/kg.

Abychom lépe pochopili pozorované změny způsobené paroxetinem, probíhá v současné době metabolická analýza polárních metabolitů v placentách a fetálních mozcích ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou Univerzity Hradec Králové. Tyto výsledky nám poskytnou informace o důsledcích změněné exprese enzymů a transportérů na úrovni mRNA. Výsledky této studie potvrzují vliv paroxetinu podávaného po celou dobu gestace na homeostázu monoaminů v placentě a fetálním mozku a vliv na uteroplacentární a fetoplacentární oběh.

Tato disertační práce přináší nové poznatky a dosud nepopsané mechanismy, jakými běžně používaná antidepresiva v těhotenství mohou narušit fetoplacentární homeostázu monoaminů a tím přispívat

k rozvoji hlášených negativních výstupů (obrázek 8). Věřím, že námi získané znalosti poslouží k dalšímu studiu této problematiky a společně s dalšími výzkumnými projekty pomůžou zlepšit bezpečnost užívání antidepresiv v těhotenství.



Obrázek 8: Negativní vliv antidepresiv na vývoj plodu. Schéma zahrnuje výsledky epidemiologických studií společně s hlavními zjištěními této disertační práce. Vytvořeno pomocí BioRender.com.

Zkratky: 5-HT – serotonin, DA – dopamin, NA – noradrenalin.

## 7. SEZNAM DALŠÍCH VÝSTUPŮ KANDIDÁTKY

---

### 7.1 Seznam publikací kandidátky nesouvisejících s tématem disertační práce

- Rona Karahoda, Cilia Abad, **Hana Horáčková**, Petr Kastner, Jonas Zaugg, Lukáš Červený, Radim Kučera, Christiane Albrecht, František Štaud: Dynamics of Tryptophan Metabolic Pathways in Human Placenta and Placental-Derived Cells: Effect of Gestation Age and Trophoblast Differentiation; *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020; 8: 574034, (IF=6.081/Q2, AIS=1.281/Q2)
- Cilia Abad, Rona Karahoda, Petr Kastner, Ramon Portillo, **Hana Horáčková**, Radim Kučera, Petr Nachtigal, František Štaud: Profiling of Tryptophan Metabolic Pathways in the Rat Fetoplacental Unit During Gestation; *International Journal of Molecular Science*, 2020 Oct 14;21(20):7578, (IF=4.556/Q1, AIS=0.943/Q2)
- Rona Karahoda, Morgane Robles, Julia Marushka, Jaroslav Stráník, Cilia Abad, **Hana Horáčková**, Jurjen Duintjer Tebbens, Cathy Vaillancourt, Marian Kacerovský, František Štaud. Prenatal inflammation as a link between placental expression signature of tryptophan metabolism and preterm birth, *Human Molecular Genetics*, 2021 Nov, 1;30(22):2053-2067, (IF=6.150/Q1, AIS=2.007/Q1)
- **Hana Horáčková**, Maria-Jose Yanez, Lorena Paz Carvajal, Claudette Cantin, Macarena Aguilera, Pedro Leiva, Jaime Gutierrez, Andrea Leiva: Cholesterol-induced changes of placental AMPK expression and activation during maternal supraphysiological hypercholesterolemia; effect of HDL, LDL, ox-LDL and MET in BeWO and PHT cells, (*Zasláno do časopisu, leden 2023*)
- Lukáš Červený, Sára Karbanová, Rona Karahoda, **Hana Horáčková**, Lucie Jirásková, Mohammed Ali, František Štaud: Transport of anti-hepatitis B drug entecavir across the rat and human placenta: roles of nucleoside and ATP-binding cassette drug efflux transporters (*Zasláno do časopisu, listopad 2022*)
- František Štaud, Xin Pan, Rona Karahoda, Xiaojing Dong, Petr Kastner, **Hana Horáčková**, Veronika Váchalová, Cilia Abad: Characterization of a human placental clearance system to prevent vascular effects of serotonin in the umbilical circulation (*Zasláno do časopisu, prosinec 2022*)

### 7.2 Prezentace dat na odborných konferencích

Následující seznam ústních a posterových prezentací získaných dat během doktorandského studia na domácích a mezinárodních odborných konferencích je uveden chronologicky dle data konání konference.

### 7.2.1 Ústní prezentace

- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Lukáš Červený, Cilia Abad, František Štaud: OCT3 role in placental serotonin handling; effect of fetal sex and inhibition by endo- and exogenous substances; 69. *Česko-slovenské farmakologické dny, Praha, 2019*
- **Hana Horáčková**, Effect of antidepressants on 5-HT homeostasis in placenta; 13. *European Placental Perfusion Workshop, virtual, 2020*
- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Veronika Váchalová, Lukáš Červený, Cilia Abad, František Štaud: Effect of antidepressants on placental handling of serotonin; 10. *Postgraduální a 8. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK, Hradec Králové, 2020*
- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Cilia Abad, Lukáš Červený, Veronika Váchalová, František Štaud: Effect of antidepressants on placental serotonin homeostasis; importance of fetal sex; 25. *Interdisciplinary Toxicology Conference/TOXCON, Praha, 2020*
- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Veronika Váchalová, Lukáš Červený, Cilia Abad, František Štaud: The inhibitory effect of antidepressant drugs on placental homeostasis of monoamine; XX. *Interdisciplinary meeting of young life scientist, virtual, 2021*
- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Veronika Váchalová, Lukáš Červený, Cilia Abad, František Štaud: Effect of antidepressants on placental serotonin homeostasis; importance of fetal sex; 11. *Postgraduální a 9. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK, Hradec Králové, 2021*
- **Hana Horáčková**, Cilia Abad, Rona Karahoda, Veronika Váchalová, Helena Turková, Kasin Anandam, Ramon Portillo, Morgane Robles, Mireia Vinas-Noguera, Martin Štěrbá, Jaroslav Stránil, Ivana Kacerovská Musilová, František Štaud: Effect of prenatal antidepressant use on monoamine homeostasis in the feto-placental unit; transcriptomic and ultrasound studies; 12. *Postgraduální a 10. Postdoktorandská vědecká konference Farmaceutické fakulty UK, Hradec Králové, 2022*
- **Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Lukáš Červený, Veronika Váchalová, Ronja Ebner, Cilia Abad, František Štaud: Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives; 70. *Česko-slovenské farmakologické dny, Bratislava, 2022*
- **Hana Horáčková**, Maria-Jose Yanez, Lorena Paz Carvajal, Claudette Cantin, Macarena Aguilera, Pedro Leiva, Jaime Gutierrez, Andrea Leiva: Effect of cholesterol on AMPK protein expression and activation in human MSPH placentas, BeWo, and PHT cells; 18th *European Placenta Group Meeting, Jouy en Josas, France, 2022*

### 7.2.2 Posterové prezentace

- **Hana Horáčková**, Jaroslav Stráník, Cilia Abad, Veronika Váchalová, Rona Karahoda, Mohammed Ali, Kasin Anandam, Ramon Portillo, Mireia Vinas, Morgane Robles, Martin Štěřba, Ivana Kacerovská Musilová, František Štaud: Effect of prenatal paroxetine treatment on monoamine homeostasis in the rat fetoplacental unit; transcriptomic and ultrasound studies; *DOHaD world congress, Vancouver, 2022*

### 7.3 Zahraniční stáže

- Osmiměsíční vědecká stáž na Univerzitě San Sebastian, Santiago, Chile, Lékařská a přírodovědecká fakulta, Školitelka Dr. Andrea Leiva

### 7.4 Ocenění získaná během doktorského studia

- 1. místo v Angelini University Award (týmová soutěž) – Angelini Pharma Česká Republika – 2020
- Cena České společnosti pro experimentální a klinickou farmakologii a toxikologii za publikaci v oboru toxikologie, 2022, Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives: Horáčková H., Karahoda R., Červený L., Váchalová V., Ebner R., Abad C., Štaud F: Pharmaceuticals

### 7.5 Grantové projekty

- Grantová agentura Univerzity Karlovy (GAUK 1464119), 2019–2021, hlavní řešitelka, Název: Antidepressants in pregnancy; mother-to-fetus transport and effect on placental transport and metabolism of serotonin
- Program START/MED/069, 2021–2023, hlavní řešitelka, Název: Pregnancy disorders; effect on fetal development and programming



## 8. CITACE

---

1. Gelaye, B., et al., *Epidemiology of maternal depression, risk factors, and child outcomes in low-income and middle-income countries*. *Lancet Psychiatry*, 2016. **3**(10): p. 973-982.
2. Jahan, N., et al., *Untreated Depression During Pregnancy and Its Effect on Pregnancy Outcomes: A Systematic Review*. *Cureus*, 2021. **13**(8): p. e17251.
3. Cooper, W.O., et al., *Increasing use of antidepressants in pregnancy*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2007. **196**(6): p. 544.e1-544.e5.
4. Charlton, R.A., et al., *Selective serotonin reuptake inhibitor prescribing before, during and after pregnancy: a population-based study in six European regions*. *Bjog*, 2015. **122**(7): p. 1010-20.
5. a, M.D., *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*. 2013: Karolinum.
6. Ewing, G., et al., *Placental transfer of antidepressant medications: implications for postnatal adaptation syndrome*. *Clin Pharmacokinet*, 2015. **54**(4): p. 359-70.
7. Videman, M., et al., *Newborn Brain Function Is Affected by Fetal Exposure to Maternal Serotonin Reuptake Inhibitors*. *Cereb Cortex*, 2017. **27**(6): p. 3208-3216.
8. Oberlander, T.F., J.A. Gingrich, and M.S. Ansorge, *Sustained neurobehavioral effects of exposure to SSRI antidepressants during development: molecular to clinical evidence*. *Clin Pharmacol Ther*, 2009. **86**(6): p. 672-7.
9. Bonnin, A. and P. Levitt, *Placental source for 5-HT that tunes fetal brain development*. *Neuropsychopharmacology*, 2012. **37**(1): p. 299-300.
10. Rosenfeld, C.S., *The placenta-brain-axis*. *J Neurosci Res*, 2021. **99**(1): p. 271-283.
11. Maroteaux, L. and F. Kilic, *Frontiers of Serotonin Beyond the Brain*. *Pharmacol Res*, 2019. **140**: p. 1-6.
12. Padbury, J.F., *Functional maturation of the adrenal medulla and peripheral sympathetic nervous system*. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1989. **3**(3): p. 689-705.
13. Macaron, C., et al., *In vitro effect of dopamine and pimozide on human chorionic gonadotropin secretion*. *Am J Obstet Gynecol*, 1979. **135**(4): p. 499-502.
14. Macaron, C., O. Famuyiwa, and S.P. Singh, *In vitro effect of dopamine and pimozide on human chorionic somatomammotropin (hCS) secretion*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1978. **47**(1): p. 168-70.
15. Prasad, P.D., et al., *Functional expression of the plasma membrane serotonin transporter but not the vesicular monoamine transporter in human placental trophoblasts and choriocarcinoma cells*. *Placenta*, 1996. **17**(4): p. 201-7.
16. Bottalico, B., et al., *Norepinephrine transporter (NET), serotonin transporter (SERT), vesicular monoamine transporter (VMAT2) and organic cation transporters (OCT1, 2 and EMT) in human placenta from pre-eclamptic and normotensive pregnancies*. *Placenta*, 2004. **25**(6): p. 518-29.
17. Karahoda, R., et al., *Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta*. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020. **229**(4): p. e13478.
18. Horackova, H., et al., *Functional characterization of dopamine and norepinephrine transport across the apical and basal plasma membranes of the human placental syncytiotrophoblast*. *Sci Rep*, 2022. **12**(1): p. 11603.
19. Karahoda, R., et al., *Dynamics of Tryptophan Metabolic Pathways in Human Placenta and Placental-Derived Cells: Effect of Gestation Age and Trophoblast Differentiation*. *Front Cell Dev Biol*, 2020. **8**: p. 574034.

20. Sodha, R.J., M. Proegler, and H. Schneider, *Transfer and metabolism of norepinephrine studied from maternal-to-fetal and fetal-to-maternal sides in the in vitro perfused human placental lobe*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1984. **148**(4): p. 474-481.
21. Karahoda, R., *DEVELOPMENTAL EXPRESSION OF CATECHOLAMINE SYSTEM IN THE HUMAN AND RAT FETOPLACENTAL UNIT* 2023.
22. Abad, C., et al., *Profiling of Tryptophan Metabolic Pathways in the Rat Fetoplacental Unit During Gestation*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(20).
23. Zhu, H.-J., et al., *Evaluation of organic cation transporter 3 (SLC22A3) inhibition as a potential mechanism of antidepressant action*. Pharmacological Research, 2012. **65**(4): p. 491-496.
24. Hayward, C.E., et al., *Placental Adaptation: What Can We Learn from Birthweight:Placental Weight Ratio?* Frontiers in Physiology, 2016. **7**.
25. Herrick, E.J. and B. Bordoni, *Embryology, Placenta*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
26. Barker, D.J., *Fetal origins of coronary heart disease*. Bmj, 1995. **311**(6998): p. 171-4.
27. Godfrey, K.M. and D.J. Barker, *Fetal programming and adult health*. Public Health Nutr, 2001. **4**(2b): p. 611-24.
28. Barker, D.J., et al., *Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life*. Lancet, 1993. **341**(8850): p. 938-41.
29. Kapila, V. and K. Chaudhry, *Physiology, Placenta*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
30. Kojima, J., et al., *Human Chorionic Villous Differentiation and Placental Development*. Int J Mol Sci, 2022. **23**(14).
31. Taylor, T., A. Quinton, and J. Hyett, *The developmental origins of placental function*. Australas J Ultrasound Med, 2017. **20**(4): p. 141-146.
32. Furukawa, S., Y. Kuroda, and A. Sugiyama, *A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals*. J Toxicol Pathol, 2014. **27**(1): p. 11-8.
33. Furukawa, S., N. Tsuji, and A. Sugiyama, *Morphology and physiology of rat placenta for toxicological evaluation*. J Toxicol Pathol, 2019. **32**(1): p. 1-17.
34. Boyd, J.D. and W.J. Hamilton, *The Human Placenta*. 1975: Macmillan Press.
35. Gude, N.M., et al., *Growth and function of the normal human placenta*. Thrombosis Research, 2004. **114**(5): p. 397-407.
36. Staud, F. and R. Karahoda, *Trophoblast: The central unit of fetal growth, protection and programming*. Int J Biochem Cell Biol, 2018. **105**: p. 35-40.
37. Knöfler, M., et al., *Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems*. Cell Mol Life Sci, 2019. **76**(18): p. 3479-3496.
38. Chang, C.W., A.K. Wakeland, and M.M. Parast, *Trophoblast lineage specification, differentiation and their regulation by oxygen tension*. J Endocrinol, 2018. **236**(1): p. R43-r56.
39. Pijnenborg, R., L. Vercruyssen, and M. Hanssens, *The Uterine Spiral Arteries In Human Pregnancy: Facts and Controversies*. Placenta, 2006. **27**(9): p. 939-958.
40. Ellery, P.M., et al., *Evidence for Transcriptional Activity in the Syncytiotrophoblast of the Human Placenta*. Placenta, 2009. **30**(4): p. 329-334.
41. Hay, W.W., Jr., *Placental transport of nutrients to the fetus*. Horm Res, 1994. **42**(4-5): p. 215-22.
42. Faber, J.J. and D.F. Anderson, *The placenta in the integrated physiology of fetal volume control*. Int J Dev Biol, 2010. **54**(2-3): p. 391-6.
43. Pávek, P., et al., *Influence of P-glycoprotein on the transplacental passage of cyclosporine*. J Pharm Sci, 2001. **90**(10): p. 1583-92.
44. Staud, F., et al., *Expression and transport activity of breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in dually perfused rat placenta and HRP-1 cell line*. J Pharmacol Exp Ther, 2006. **319**(1): p. 53-62.

45. Costa, M.A., *The endocrine function of human placenta: an overview*. *Reprod Biomed Online*, 2016. **32**(1): p. 14-43.
46. Simister, N.E., *Placental transport of immunoglobulin G*. *Vaccine*, 2003. **21**(24): p. 3365-9.
47. Burton, G.J. and A.L. Fowden, *The placenta: a multifaceted, transient organ*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015. **370**(1663): p. 20140066.
48. Vaupel, P. and G. Multhoff, *Blood Flow and Respiratory Gas Exchange in the Human Placenta at Term: A Data Update*. *Adv Exp Med Biol*, 2022. **1395**: p. 379-384.
49. Illsley, N.P., *Glucose transporters in the human placenta*. *Placenta*, 2000. **21**(1): p. 14-22.
50. Koepsell, H. and H. Endou, *The SLC22 drug transporter family*. *Pflugers Arch*, 2004. **447**(5): p. 666-76.
51. Roth, M., A. Obaidat, and B. Hagenbuch, *OATPs, OATs and OCTs: the organic anion and cation transporters of the SLCO and SLC22A gene superfamilies*. *Br J Pharmacol*, 2012. **165**(5): p. 1260-87.
52. Cantin, C., B. Fuenzalida, and A. Leiva, *Maternal hypercholesterolemia during pregnancy: Potential modulation of cholesterol transport through the human placenta and lipoprotein profile in maternal and neonatal circulation*. *Placenta*, 2020. **94**: p. 26-33.
53. Staud, F., L. Cerveny, and M. Ceckova, *Pharmacotherapy in pregnancy; effect of ABC and SLC transporters on drug transport across the placenta and fetal drug exposure*. *J Drug Target*, 2012. **20**(9): p. 736-63.
54. Chen, I. and F. Lui, *Physiology, Active Transport*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
55. Hempstock, J., et al., *Endometrial glands as a source of nutrients, growth factors and cytokines during the first trimester of human pregnancy: a morphological and immunohistochemical study*. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004. **2**: p. 58.
56. Jauniaux, E. and B. Gulbis, *Fluid compartments of the embryonic environment*. *Hum Reprod Update*, 2000. **6**(3): p. 268-78.
57. Barat, A., et al., *Solute carriers (SLCs) identified and characterized from kidney transcriptome of golden mahseer (Tor putitora) (Fam: Cyprinidae)*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2016. **200**: p. 54-61.
58. Lin, L., et al., *SLC transporters as therapeutic targets: emerging opportunities*. *Nat Rev Drug Discov*, 2015. **14**(8): p. 543-60.
59. Baudry, A., et al., *Multifaceted Regulations of the Serotonin Transporter: Impact on Antidepressant Response*. *Front Neurosci*, 2019. **13**: p. 91.
60. Lesch, K.P., et al., *Regional brain expression of serotonin transporter mRNA and its regulation by reuptake inhibiting antidepressants*. *Brain Res Mol Brain Res*, 1993. **17**(1-2): p. 31-5.
61. Zhou, Q. and G.N. Verne, *Disruption of the Mucosal Serotonin Reuptake Transporter (SERT) Through Gut Dysbiosis*. *Gastroenterology*, 2022. **162**(7): p. 1833-1834.
62. Schroeter, S., A.I. Levey, and R.D. Blakely, *Polarized expression of the antidepressant-sensitive serotonin transporter in epinephrine-synthesizing chromaffin cells of the rat adrenal gland*. *Mol Cell Neurosci*, 1997. **9**(3): p. 170-84.
63. Herr, N., C. Bode, and D. Duerschmied, *The Effects of Serotonin in Immune Cells*. *Front Cardiovasc Med*, 2017. **4**: p. 48.
64. Frille, A., et al., *Increased pulmonary serotonin transporter in patients with chronic obstructive pulmonary disease who developed pulmonary hypertension*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021. **48**(4): p. 1081-1092.
65. Zabolinejad, N., et al., *The expression of serotonin transporter protein in the skin of patients with chronic spontaneous urticaria and its relation with depression and anxiety*. *Arch Dermatol Res*, 2019. **311**(10): p. 825-831.
66. Burtscher, V., et al., *Kinetic Models of Secondary Active Transporters*. *Int J Mol Sci*, 2019. **20**(21).

67. Szöllösi, D. and T. Stockner, *Investigating the Mechanism of Sodium Binding to SERT Using Direct Simulations*. Front Cell Neurosci, 2021. **15**: p. 673782.
68. Bhat, S., et al., *Handling of intracellular K<sup>+</sup> determines voltage dependence of plasmalemmal monoamine transporter function*. eLife, 2021. **10**: p. e67996.
69. Ramamoorthy, S., et al., *Active transport of dopamine in human placental brush-border membrane vesicles*. Am J Physiol, 1992. **262**(5 Pt 1): p. C1189-96.
70. Miozzo, R., et al., *The serotonin transporter gene polymorphism (SLC6A4) and risk for psychiatric morbidity and comorbidity in the Baltimore ECA follow-up study*. Compr Psychiatry, 2020. **102**: p. 152199.
71. Shen, H.W., et al., *Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in vivo microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters*. Neuropsychopharmacology, 2004. **29**(10): p. 1790-9.
72. Vizi, E.S., et al., *Uptake and release of norepinephrine by serotonergic terminals in norepinephrine transporter knock-out mice: implications for the action of selective serotonin reuptake inhibitors*. J Neurosci, 2004. **24**(36): p. 7888-94.
73. Lang, U., J. Prada, and K.E. Clark, *Systemic and uterine vascular response to serotonin in third trimester pregnant ewes*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1993. **51**(2): p. 131-8.
74. González, C., et al., *Serotonin-induced vasoconstriction in human placental chorionic veins: interaction with prostaglandin F<sub>2</sub> alpha*. Gynecol Obstet Invest, 1993. **35**(2): p. 86-90.
75. Cruz, M.A., et al., *Serotonin-induced vasoconstriction is mediated by thromboxane release and action in the human fetal-placental circulation*. Placenta, 1997. **18**(2): p. 197-204.
76. Vincent, S., *Norepinephrine Transporter*, in *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, L. Martini, Editor. 2004, Elsevier: New York. p. 382-386.
77. Cleary, S., et al., *Expression of the noradrenaline transporter and phenylethanolamine N-methyltransferase in normal human adrenal gland and pheochromocytoma*. Cell Tissue Res, 2005. **322**(3): p. 443-53.
78. Aggarwal, S. and O.V. Mortensen, *Overview of Monoamine Transporters*. Curr Protoc Pharmacol, 2017. **79**: p. 12.16.1-12.16.17.
79. Streby, K.A., et al., *Nothing but NET: a review of norepinephrine transporter expression and efficacy of 131I-MIBG therapy*. Pediatr Blood Cancer, 2015. **62**(1): p. 5-11.
80. Gu, H.H., S. Wall, and G. Rudnick, *Ion Coupling Stoichiometry for the Norepinephrine Transporter in Membrane Vesicles from Stably Transfected Cells (\*)*. Journal of Biological Chemistry, 1996. **271**(12): p. 6911-6916.
81. Ramamoorthy, S., et al., *Expression of a cocaine-sensitive norepinephrine transporter in the human placental syncytiotrophoblast*. Biochemistry, 1993. **32**(5): p. 1346-53.
82. Zhou, J., *Norepinephrine transporter inhibitors and their therapeutic potential*. Drugs Future, 2004. **29**(12): p. 1235-1244.
83. Hahn, M.K., *Chapter 90 - Norepinephrine Transporter Deficiency*, in *Primer on the Autonomic Nervous System (Third Edition)*, D. Robertson, et al., Editors. 2012, Academic Press: San Diego. p. 439-442.
84. Carboni, E., et al., *Blockade of the noradrenaline carrier increases extracellular dopamine concentrations in the prefrontal cortex: evidence that dopamine is taken up in vivo by noradrenergic terminals*. J Neurochem, 1990. **55**(3): p. 1067-70.
85. Carboni, E. and A. Silvagni, *Dopamine reuptake by norepinephrine neurons: exception or rule?* Crit Rev Neurobiol, 2004. **16**(1-2): p. 121-8.
86. Daws, L.C., *Unfaithful neurotransmitter transporters: focus on serotonin uptake and implications for antidepressant efficacy*. Pharmacol Ther, 2009. **121**(1): p. 89-99.
87. Levitt, P., et al., *New evidence for neurotransmitter influences on brain development*. Trends in Neurosciences, 1997. **20**(6): p. 269-274.
88. Rosenfeld, C.R., et al., *Differential sensitivity to angiotensin II and norepinephrine in human uterine arteries*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(1): p. 138-47.

89. Rudnick, G. and J. Clark, *From synapse to vesicle: The reuptake and storage of biogenic amine neurotransmitters*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1993. **1144**(3): p. 249-263.
90. De Felice, L.J., *Chloride requirement for monoamine transporters*. Pflugers Arch, 2016. **468**(3): p. 503-11.
91. Ciliax, B.J., et al., *The dopamine transporter: immunochemical characterization and localization in brain*. J Neurosci, 1995. **15**(3 Pt 1): p. 1714-23.
92. Mackie, P., et al., *The dopamine transporter: An unrecognized nexus for dysfunctional peripheral immunity and signaling in Parkinson's Disease*. Brain Behav Immun, 2018. **70**: p. 21-35.
93. Kurian, M.A., et al., *Homozygous loss-of-function mutations in the gene encoding the dopamine transporter are associated with infantile parkinsonism-dystonia*. J Clin Invest, 2009. **119**(6): p. 1595-603.
94. Zhou, F.C., K.P. Lesch, and D.L. Murphy, *Serotonin uptake into dopamine neurons via dopamine transporters: a compensatory alternative*. Brain Res, 2002. **942**(1-2): p. 109-19.
95. Couroussé, T. and S. Gautron, *Role of organic cation transporters (OCTs) in the brain*. Pharmacology & Therapeutics, 2015. **146**: p. 94-103.
96. Samodelov, S.L., et al., *Organic Cation Transporters in Human Physiology, Pharmacology, and Toxicology*. Int J Mol Sci, 2020. **21**(21).
97. Koepsell, H., *Organic Cation Transporters in Health and Disease*. Pharmacological Reviews, 2020. **72**(1): p. 253.
98. Chen, L., et al., *Role of organic cation transporter 3 (SLC22A3) and its missense variants in the pharmacologic action of metformin*. Pharmacogenet Genomics, 2010. **20**(11): p. 687-99.
99. Sata, R., et al., *Functional analysis of organic cation transporter 3 expressed in human placenta*. J Pharmacol Exp Ther, 2005. **315**(2): p. 888-95.
100. Gasser, P.J., et al., *Organic cation transporter 3 (OCT3) is localized to intracellular and surface membranes in select glial and neuronal cells within the basolateral amygdaloid complex of both rats and mice*. Brain Struct Funct, 2017. **222**(4): p. 1913-1928.
101. Wu, X., et al., *Identity of the Organic Cation Transporter OCT3 as the Extraneuronal Monoamine Transporter (uptake2) and Evidence for the Expression of the Transporter in the Brain\**. Journal of Biological Chemistry, 1998. **273**(49): p. 32776-32786.
102. Miroslav, O., *Nervové buňky a jejich svět*. 2015: Grada.
103. MOHAMMAD-ZADEH, L.F., L. MOSES, and S.M. GWALTNEY-BRANT, *Serotonin: a review*. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2008. **31**(3): p. 187-199.
104. Shattuck, M.R., et al., *The evolutionary history of SLC6A4 and the role of plasticity in Macaca*. Am J Phys Anthropol, 2014. **153**(4): p. 605-16.
105. Berger, M., J.A. Gray, and B.L. Roth, *The expanded biology of serotonin*. Annu Rev Med, 2009. **60**: p. 355-66.
106. Banskota, S., J.-E. Ghia, and W.I. Khan, *Serotonin in the gut: Blessing or a curse*. Biochimie, 2019. **161**: p. 56-64.
107. Walther, D.J., et al., *Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform*. Science, 2003. **299**(5603): p. 76-76.
108. Kanova, M. and P. Kohout, *Serotonin-Its Synthesis and Roles in the Healthy and the Critically Ill*. Int J Mol Sci, 2021. **22**(9).
109. Sato, K., *Placenta-derived hypo-serotonin situations in the developing forebrain cause autism*. Med Hypotheses, 2013. **80**(4): p. 368-72.
110. Shah, R., et al., *Abnormal Serotonin Levels During Perinatal Development Lead to Behavioral Deficits in Adulthood*. Front Behav Neurosci, 2018. **12**: p. 114.
111. Lavdas, A.A., et al., *Serotonin promotes the differentiation of glutamate neurons in organotypic slice cultures of the developing cerebral cortex*. J Neurosci, 1997. **17**(20): p. 7872-80.

112. Khozhai, L.I. and V.A. Otellin, [*Synaptogenesis in the dorsal raphe nucleus of rat medulla oblongata in serotonin deficiency*]. *Morfologija*, 2012. **142**(6): p. 20-4.
113. Papaioannou, A., et al., *Effects of neonatal handling on basal and stress-induced monoamine levels in the male and female rat brain*. *Neuroscience*, 2002. **114**(1): p. 195-206.
114. Goeden, N., et al., *Maternal Inflammation Disrupts Fetal Neurodevelopment via Increased Placental Output of Serotonin to the Fetal Brain*. *J Neurosci*, 2016. **36**(22): p. 6041-9.
115. Xu, Y., Y. Sari, and F.C. Zhou, *Selective serotonin reuptake inhibitor disrupts organization of thalamocortical somatosensory barrels during development*. *Brain Res Dev Brain Res*, 2004. **150**(2): p. 151-61.
116. Lidov, H.G.W. and M.E. Molliver, *Immunohistochemical study of the development of serotonergic neurons in the rat CNS*. *Brain Research Bulletin*, 1982. **9**(1): p. 559-604.
117. Bonnin, A. and P. Levitt, *Fetal, maternal, and placental sources of serotonin and new implications for developmental programming of the brain*. *Neuroscience*, 2011. **197**: p. 1-7.
118. Bonnin, A., et al., *A transient placental source of serotonin for the fetal forebrain*. *Nature*, 2011. **472**(7343): p. 347-50.
119. Frantisek Staud, X.P., Rona Karahoda, Xiaojing Dong, Petr Kastner, Hana Horackova, Veronika Vachalova, Cilia Abad, *Characterization of a human placental clearance system to prevent vascular effects of serotonin in the umbilical circulation*. 2023.
120. Yeragani, V.K., et al., *Arvid Carlsson, and the story of dopamine*. *Indian J Psychiatry*, 2010. **52**(1): p. 87-8.
121. Jay, T.M., *Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms*. *Progress in Neurobiology*, 2003. **69**(6): p. 375-390.
122. Best, J.A., H.F. Nijhout, and M.C. Reed, *Homeostatic mechanisms in dopamine synthesis and release: a mathematical model*. *Theor Biol Med Model*, 2009. **6**: p. 21.
123. Mackie, P., et al., *The dopamine transporter: An unrecognized nexus for dysfunctional peripheral immunity and signaling in Parkinson's Disease*. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2018. **70**: p. 21-35.
124. Eisenhofer, G., et al., *Substantial production of dopamine in the human gastrointestinal tract*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. **82**(11): p. 3864-71.
125. Brisch, R., et al., *The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue*. *Front Psychiatry*, 2014. **5**: p. 47.
126. Lotharius, J. and P. Brundin, *Pathogenesis of parkinson's disease: dopamine, vesicles and  $\alpha$ -synuclein*. *Nature Reviews Neuroscience*, 2002. **3**(12): p. 932-942.
127. Jankovic, J., *Tourette's syndrome*. *N Engl J Med*, 2001. **345**(16): p. 1184-92.
128. Heaton, J.P., *Central neuropharmacological agents and mechanisms in erectile dysfunction: the role of dopamine*. *Neurosci Biobehav Rev*, 2000. **24**(5): p. 561-9.
129. Di Chiara, G., et al., *Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection*. *Neuropharmacology*, 2004. **47 Suppl 1**: p. 227-41.
130. Meiser, J., D. Weindl, and K. Hiller, *Complexity of dopamine metabolism*. *Cell Communication and Signaling*, 2013. **11**(1): p. 34.
131. Shearman, L.P., J. Zeitzer, and D.R. Weaver, *Widespread expression of functional D1-dopamine receptors in fetal rat brain*. *Brain Res Dev Brain Res*, 1997. **102**(1): p. 105-15.
132. Ohtani, N., et al., *Dopamine modulates cell cycle in the lateral ganglionic eminence*. *J Neurosci*, 2003. **23**(7): p. 2840-50.
133. Popolo, M., D.M. McCarthy, and P.G. Bhide, *Influence of dopamine on precursor cell proliferation and differentiation in the embryonic mouse telencephalon*. *Dev Neurosci*, 2004. **26**(2-4): p. 229-44.
134. Crandall, J.E., et al., *Dopamine receptor activation modulates GABA neuron migration from the basal forebrain to the cerebral cortex*. *J Neurosci*, 2007. **27**(14): p. 3813-22.
135. Schmidt, U., et al., *Activation of dopaminergic D1 receptors promotes morphogenesis of developing striatal neurons*. *Neuroscience*, 1996. **74**(2): p. 453-60.

136. Coulon, J.F., et al., *Gene expression of tyrosine hydroxylase in the developing fetal brain*. J Neurochem, 1990. **55**(4): p. 1412-7.
137. Hussain, L.S., V. Reddy, and C.V. Maani, *Physiology, Noradrenergic Synapse*, in *StatPearls*. 2022, StatPearls Publishing Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.: Treasure Island (FL).
138. Gannon, M., et al., *Noradrenergic dysfunction in Alzheimer's disease*. Frontiers in Neuroscience, 2015. **9**.
139. Vanicek, T., et al., *The norepinephrine transporter in attention-deficit/hyperactivity disorder investigated with positron emission tomography*. JAMA Psychiatry, 2014. **71**(12): p. 1340-1349.
140. Mäki-Marttunen, V., O.A. Andreassen, and T. Espeseth, *The role of norepinephrine in the pathophysiology of schizophrenia*. Neurosci Biobehav Rev, 2020. **118**: p. 298-314.
141. Lee, S., et al., *Depression research: where are we now?* Molecular Brain, 2010. **3**(1): p. 8.
142. Liang, C.-s., et al., *Alterations by Norepinephrine of Cardiac Sympathetic Nerve Terminal Function and Myocardial  $\beta$ -Adrenergic Receptor Sensitivity in the Ferret*. Circulation, 2000. **102**(1): p. 96-103.
143. Borges, R., L. Gandía, and E. Carbone, *Old and emerging concepts on adrenal chromaffin cell stimulus-secretion coupling*. Pflügers Archiv - European Journal of Physiology, 2018. **470**(1): p. 1-6.
144. Carbone, E., et al., *Chromaffin Cells of the Adrenal Medulla: Physiology, Pharmacology, and Disease*, in *Comprehensive Physiology*. p. 1443-1502.
145. Saboory, E., M. Ghasemi, and N. Mehranfard, *Norepinephrine, neurodevelopment and behavior*. Neurochemistry International, 2020. **135**: p. 104706.
146. Thomas, S.A., A.M. Matsumoto, and R.D. Palmiter, *Noradrenaline is essential for mouse fetal development*. Nature, 1995. **374**(6523): p. 643-6.
147. Giannakoulopoulos, X., et al., *Human Fetal and Maternal Noradrenaline Responses to Invasive Procedures*. Pediatric Research, 1999. **45**(4): p. 494-499.
148. Mårtensson, L. and A.M. Carter, *Effect of noradrenaline on circulation in the genital tract of early and late pregnant guinea-pigs*. J Reprod Fertil, 1982. **66**(1): p. 23-9.
149. Bodelsson, G., K. Maršál, and M. Stjernquist, *Reduced contractile effect of endothelin-1 and noradrenalin in human umbilical artery from pregnancies with abnormal umbilical artery flow velocity waveforms*. Early Human Development, 1995. **42**(1): p. 15-28.
150. World Health, O., *Depression and other common mental disorders: global health estimates*. 2017, World Health Organization: Geneva.
151. Wang, H., et al., *Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980&#x2013;2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015*. The Lancet, 2016. **388**(10053): p. 1459-1544.
152. Bloch, M., R.C. Daly, and D.R. Rubinow, *Endocrine factors in the etiology of postpartum depression*. Comprehensive Psychiatry, 2003. **44**(3): p. 234-246.
153. Amiel Castro, R.T., et al., *Associated symptoms of depression: patterns of change during pregnancy*. Arch Womens Ment Health, 2017. **20**(1): p. 123-128.
154. Li, J., et al., *Quality of Life in Mothers With Perinatal Depression: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Front Psychiatry, 2022. **13**: p. 734836.
155. Hutchens, B.F. and J. Kearney, *Risk Factors for Postpartum Depression: An Umbrella Review*. Journal of Midwifery & Women's Health, 2020. **65**(1): p. 96-108.
156. Orsolini, L., et al., *Suicide during Perinatal Period: Epidemiology, Risk Factors, and Clinical Correlates*. Front Psychiatry, 2016. **7**: p. 138.
157. Ryan, D., L. Milis, and N. Misri, *Depression during pregnancy*. Can Fam Physician, 2005. **51**(8): p. 1087-93.
158. Cohen, L.S., et al., *Relapse of major depression during pregnancy in women who maintain or discontinue antidepressant treatment*. Jama, 2006. **295**(5): p. 499-507.

159. Levis, B., A. Benedetti, and B.D. Thombs, *Accuracy of Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) for screening to detect major depression: individual participant data meta-analysis*. *Bmj*, 2019. **365**: p. l1476.
160. SAMUEL B. GUZE, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. (DSM-IV)*. American Journal of Psychiatry, 1995. **152**(8): p. 1228-1228.
161. Murray, D. and J.L. Cox, *Screening for depression during pregnancy with the edinburgh depression scale (EDDS)*. *Journal of Reproductive and Infant Psychology*, 1990. **8**(2): p. 99-107.
162. García-Batista, Z.E., et al., *Validity and reliability of the Beck Depression Inventory (BDI-II) in general and hospital population of Dominican Republic*. *PLoS One*, 2018. **13**(6): p. e0199750.
163. Steer, R.A., et al., *Self-reported depression and negative pregnancy outcomes*. *J Clin Epidemiol*, 1992. **45**(10): p. 1093-9.
164. Jarde, A., et al., *Neonatal Outcomes in Women With Untreated Antenatal Depression Compared With Women Without Depression: A Systematic Review and Meta-analysis*. *JAMA Psychiatry*, 2016. **73**(8): p. 826-37.
165. Fekadu Dadi, A., et al., *Effect of antenatal depression on adverse birth outcomes in Gondar town, Ethiopia: A community-based cohort study*. *PLOS ONE*, 2020. **15**(6): p. e0234728.
166. O'Connor, T.G., et al., *Maternal antenatal anxiety and behavioural/emotional problems in children: a test of a programming hypothesis*. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 2003. **44**(7): p. 1025-1036.
167. Van den Bergh, B.R. and A. Marcoen, *High antenatal maternal anxiety is related to ADHD symptoms, externalizing problems, and anxiety in 8- and 9-year-olds*. *Child Dev*, 2004. **75**(4): p. 1085-97.
168. Nutt, D.J., et al., *International consensus statement on major depressive disorder*. *J Clin Psychiatry*, 2010. **71 Suppl E1**: p. e08.
169. Frazer, A. and S. Benmansour, *Delayed pharmacological effects of antidepressants*. *Molecular Psychiatry*, 2002. **7**(1): p. S23-S28.
170. Fujakova, M. and M. Kopecek, *Antidepressants - from theory to clinical use (in Czech) / Antidepressiva – od teorie ke klinické praxi*. *Klinická Farmakologie a Farmacie*, 2012. **26**: p. 29-37.
171. van Harten, J., *Clinical pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors*. *Clin Pharmacokinet*, 1993. **24**(3): p. 203-20.
172. Nevels, R.M., S.T. Gontkovsky, and B.E. Williams, *Paroxetine-The Antidepressant from Hell? Probably Not, But Caution Required*. *Psychopharmacol Bull*, 2016. **46**(1): p. 77-104.
173. Gillman, P.K., *Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated*. *Br J Pharmacol*, 2007. **151**(6): p. 737-48.
174. Audus, K.L., *Controlling drug delivery across the placenta*. *Eur J Pharm Sci*, 1999. **8**(3): p. 161-5.
175. Ross, E.J., et al., *Developmental consequences of fetal exposure to drugs: what we know and what we still must learn*. *Neuropsychopharmacology*, 2015. **40**(1): p. 61-87.
176. Kieviet, N., K.M. Dolman, and A. Honig, *The use of psychotropic medication during pregnancy: how about the newborn?* *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2013. **9**: p. 1257-66.
177. Nordeng, H., et al., *Neonatal withdrawal syndrome after in utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors*. *Acta Paediatr*, 2001. **90**(3): p. 288-91.
178. Yonkers, K.A., et al., *The management of depression during pregnancy: a report from the American Psychiatric Association and the American College of Obstetricians and Gynecologists*. *Gen Hosp Psychiatry*, 2009. **31**(5): p. 403-13.
179. Bérard, A., J.P. Zhao, and O. Sheehy, *Antidepressant use during pregnancy and the risk of major congenital malformations in a cohort of depressed pregnant women: an updated analysis of the Quebec Pregnancy Cohort*. *BMJ Open*, 2017. **7**(1): p. e013372.
180. Diav-Citrin, O., et al., *Paroxetine and fluoxetine in pregnancy: a prospective, multicentre, controlled, observational study*. *Br J Clin Pharmacol*, 2008. **66**(5): p. 695-705.



181. Louik, C., et al., *First-Trimester Use of Selective Serotonin-Reuptake Inhibitors and the Risk of Birth Defects*. New England Journal of Medicine, 2007. **356**(26): p. 2675-2683.
182. Bakker, M.K., et al., *First-trimester use of paroxetine and congenital heart defects: a population-based case-control study*. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2010. **88**(2): p. 94-100.
183. Gao, S.Y., et al., *Fluoxetine and congenital malformations: a systematic review and meta-analysis of cohort studies*. Br J Clin Pharmacol, 2017. **83**(10): p. 2134-2147.
184. Bérard, A., J.-P. Zhao, and O. Sheehy, *Sertraline use during pregnancy and the risk of major malformations*. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 2015. **212**(6): p. 795.e1-795.e12.
185. Liu, X., et al., *Antidepressant use during pregnancy and psychiatric disorders in offspring: Danish nationwide register based cohort study*. BMJ, 2017. **358**: p. j3668.
186. Malm, H., et al., *Gestational Exposure to Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Offspring Psychiatric Disorders: A National Register-Based Study*. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2016. **55**(5): p. 359-66.
187. Morales, D.R., et al., *Antidepressant use during pregnancy and risk of autism spectrum disorder and attention deficit hyperactivity disorder: systematic review of observational studies and methodological considerations*. BMC Medicine, 2018. **16**(1): p. 6.
188. Boukhris, T., et al., *Antidepressant Use During Pregnancy and the Risk of Autism Spectrum Disorder in Children*. JAMA Pediatr, 2016. **170**(2): p. 117-24.
189. Gidaya, N.B., et al., *In utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors and risk for autism spectrum disorder*. J Autism Dev Disord, 2014. **44**(10): p. 2558-67.
190. Mao, Y., et al., *Prenatal exposure to antidepressants and risk of epilepsy in childhood*. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2016. **25**(11): p. 1320-1330.
191. Jensen, H.M., et al., *Maternal depression, antidepressant use in pregnancy and Apgar scores in infants*. Br J Psychiatry, 2013. **202**(5): p. 347-51.
192. Simon, G.E., M.L. Cunningham, and R.L. Davis, *Outcomes of prenatal antidepressant exposure*. Am J Psychiatry, 2002. **159**(12): p. 2055-61.
193. Zhao, X., et al., *A meta-analysis of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) use during prenatal depression and risk of low birth weight and small for gestational age*. J Affect Disord, 2018. **241**: p. 563-570.
194. Palmsten, K., et al., *Antidepressant use and risk for preeclampsia*. Epidemiology, 2013. **24**(5): p. 682-91.
195. Fornaro, E., et al., *Prenatal exposure to fluoxetine induces fetal pulmonary hypertension in the rat*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **176**(10): p. 1035-40.
196. Bernard, N., et al., *Use of antidepressants and anxiolytics in early pregnancy and the risk of preeclampsia and gestational hypertension: a prospective study*. BMC Pregnancy and Childbirth, 2019. **19**(1): p. 146.
197. Thase, M.E., *Effects of venlafaxine on blood pressure: a meta-analysis of original data from 3744 depressed patients*. J Clin Psychiatry, 1998. **59**(10): p. 502-8.
198. Horackova, H., et al., *Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives*. Pharmaceutics, 2021. **13**(8).
199. Gobinath, A.R., et al., *Sex-dependent effects of maternal corticosterone and SSRI treatment on hippocampal neurogenesis across development*. Biol Sex Differ, 2017. **8**: p. 20.
200. Harrington, R.A., et al., *Prenatal SSRI use and offspring with autism spectrum disorder or developmental delay*. Pediatrics, 2014. **133**(5): p. e1241-8.
201. Horackova, H., et al., *Perfused rat term placenta as a preclinical model to investigate placental dopamine and norepinephrine transport*. Clin Sci (Lond), 2023.
202. Chen, D.B. and J. Zheng, *Regulation of placental angiogenesis*. Microcirculation, 2014. **21**(1): p. 15-25.
203. Kingdom, J.C. and P. Kaufmann, *Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia*. Placenta, 1997. **18**(8): p. 613-21; discussion 623-6.

## 9. SEZNAM PŘÍLOH

---

**P1.** Serotonin homeostasis in the materno-foetal interface at term: Role of transporters (SERT/SLC6A4 and OCT3/SLC22A3) and monoamine oxidase A (MAO-A) in uptake and degradation of serotonin by human and rat term placenta

Rona Karahoda, **Hana Horáčková**, Petr Kastner, Andreas Matthios, Lukáš Červený, Radim Kučera, Marian Kacerovský, Jurjen Duintjer Tebbens, Alexandre Bonnin, Cilia Abad, František Štaud

*Acta Physiologica (Oxf)*, 2020 Aug;229(4):e13478, (IF = 5.87/Q1/D1, AIS = 1.212/Q1)

Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32311818/>

**P2.** Functional characterization of dopamine and norepinephrine transport across the apical and basal plasma membranes of the human placental syncytiotrophoblast

**Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Veronika Váchalová, Helena Turková, Cilia Abad, František Štaud

*Scientific Reports*, (2022) Jul 8;12(1):11603, (IF = 4.997/Q2, AIS = 1.208/Q2)

Práce je dostupná online: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-15790-7>

**P3.** Effect of Selected Antidepressants on Placental Homeostasis of Serotonin: Maternal and Fetal Perspectives

**Hana Horáčková**, Rona Karahoda, Lukáš Červený, Veronika Váchalová, Ronja Ebner, Cilia Abad, František Štaud

*Pharmaceutics*, 2021 Aug 20;13(8):1306, (IF = 6.321/Q1; AIS = 0.903/Q2)

Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34452265/>

**P4.** Perfused rat term placenta as a preclinical model to investigate placental dopamine and norepinephrine transport

**Hana Horáčková**, Veronika Váchalová, Cilia Abad, Rona Karahoda, František Štaud

*Clinical Science (London)*, 2023 Jan 4;CS20220726, (IF = 6.876/Q1, AIS = 1.458/Q1)

Práce je dostupná online: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36598165/>