

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Disertační práce

**Vliv prenatální aplikace metamfetaminu a
prenatální hypoxie na příznaky podobné
ADHD**

Mgr. Anna Bednaříková

Školitel: prof. MUDr. Romana Šlamberová, Ph.D.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení: Mgr. Anna Bednaříková

Název disertační práce: Vliv prenatální aplikace metamfetaminu a prenatální hypoxie na příznaky podobné ADHD

Název disertační práce anglicky: The influence of prenatal methamphetamine exposure and prenatal hypoxia exposure on ADHD-like symptoms

Školící pracoviště: Ústav fyziologie 3. LF UK

Školitel: prof. MUDr. Romana Šlamberová, Ph.D.

Konzultant: doc. RNDr. Anna Yamamotová, CSc.

Obor postgraduálního doktorského studia biomedicíny: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc,

Práce vznikla v letech 2016-2022 v rámci doktorského studia biomedicíny na 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy.

Prohlášení

Prohlašuji, že v disertační práci jsou použita originální data ze studie provedené v rámci postgraduálního studia na Ústavu fyziologie 3. LF UK.

Disertační práce byla podpořena z finančních zdrojů Grantové agentury Univerzity Karlovy (GAUK 1520218), výzkumným projektem Univerzity Karlovy Progres Q 35 a Cooperatio Neurosciences, Specifickým výzkumným projektem Univerzity Karlovy SVV 260648, výzkumným projektem GAČR 18-03806S a projektem OP VVV “PharmaBrain” CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007444 z OP VVV.

Prohlašuji, že jsem na této disertační práci pracovala samostatně a že jsem nepoužila jiné zdroje a literaturu než ty, které jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi pomáhali při vzniku této práce. Největší díky patří mé školitelce prof. MUDr. Romaně Šlamberové, PhD., za její odborné vedení, pomoc při metodikách pokusů, statistickém zpracování a za celkový čas věnovaný mi během postgraduálního studia. Dále bych chtěla poděkovat své konzultantce doc. RNDr. Anně Yamamotové, CSc. za pomoc zejména se statistickým zpracováním výsledků, MUDr. Marii Pometlové, CSc. za zaškolení metodiky NORT a OLT, MUDr. Kateryně Nohejlové, PhD., za zaškolení metodiky Morrisova vodního bludiště a testu Laboras. Také bych chtěla poděkovat Pavlu Charvátovi za zaškolení a pomoc s obsluhou přístroje na modelování hypoxie. Dále bych ráda poděkovala všem svým kolegyním Mgr. Lýdii Mihalčíkové, PhD., Mgr. Anně Kroupové, PhD., RNDr. Ivaně Petříkové, PhD., a Mgr. Barboře Čechové za pomoc s experimenty a psychickou podporu.

Nakonec bych ráda poděkovala své rodině a blízkým za jejich podporu během celého studia.

Seznam použitých zkratek

5-HIAA – 5-hydroxyindolactová kyselina

6-OHDA – 6-hydroxydopamin hydrochlorid

ADHD – Attention Deficit and Hyperactivity Disorder

ASD – Autism spectrum disorder

ATP - adenosintrifosfát

D4, D5 – dopaminový receptor 4, dopaminový receptor 5

DA – dopamin

DAT – dopamine active transporter

DMAP – dimetyl alkylfosfát

DNA – deoxyribonukleová kyselina

DSM - Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders

C – kontrolní skupina

cAMP – cyklický adenosin monofosfát

CNS – centrální nervová soustava

ČR – Česká republika

EU – Evropská unie

EMCDDA – Evropské monitorovací centrum pro drogy a drogovou závislost

FDA – Food and Drug Administration

fMRI – funkční magnetická rezonance

H – hypoxie

IQ – inteligenční kvocient

IR – investigační ratio

J – jih

MA – metamfetamin

MAO – monoaminoxidáza

MCT-1 – monocarboxylate lactate transporter

MR – magnetická rezonance

NA – noradrenalin

NGFI-B – Nerve growth factor-induced clone B

NHE – Naples high excitability rats

NMDA – N-metyl-D-aspartát

NORT – Novel object recognition test

NR 1 – podjednotka NMDA receptoru

OLT – Object location test

PD – postnatální den

PCB – polychlorované bifenyly

PET – pozitronová emisní tomografie

RNA – ribonukleová kyselina

S – sever

SA – saline, fyziologický roztok

SHR – spontaneously hypertensive rats

SV – severovýchod

UNDODC – United Nations Office on Drugs and Crime

USA – United States of America

V – východ

VMAT – vesicular monoamine transporter

WKY – Wistar-Kyoto rat

WKHA – Wistar-Kyoto hyperactive rat

Z – západ

Abstrakt

ADHD je duševní onemocnění heterogenního původu. Počet pacientů trpících ADHD stále narůstá. Přesný patofyziologický původ onemocnění dosud nebyl objasněn. V současné době existuje několik zvířecích modelů ADHD – genetické modely, farmakologické modely (etanol, nikotin, Polychlorované bifenyly - PCBs, léze 6-hydroxydopaminu) nebo prenatální hypoxie.

Metamfetamin (MA) je nejčastěji zneužívaný psychostimulant v České republice. V případě zneužívání MA těhotnými ženami poškozuje nejen matku samotnou, ale i vyvíjející se plod. V případě kojení ovlivňuje vývoj dítěte i postnatálně. MA způsobuje abnormality placenty a pupečníku, které mají za následek hypoxii a malnutrici. Navíc naše předchozí studie prokázaly, že prenatální expozice MA způsobila poruchy paměti, změny v NMDA receptorech a změny monoaminergního systému. Rovněž jsme v našich předchozích studiích pozorovali zvýšenou lokomoční aktivitu u zvířat prenatálně exponovaných MA. Hyperlokomoce a poruchy paměti bývají symptomy i u dospělých a dětí s ADHD.

Cílem naší práce bylo proto zjistit, zda prenatální expozice MA vyvolá příznaky podobné ADHD ve srovnání s prenatální hypoxií a zda by prenatální expozice MA mohla být použita jako animální model ADHD.

Březi samice kmene Wistar byly rozděleny do čtyř skupin na základě jejich expozice během gestace. 1. skupině byl podáván MA v dávce 5mg/kg, 2. skupině byl podáván fyziologický roztok, 3. skupina byla vystavena hypoxii (10 % O₂) na hodinu denně a 4. skupina byla kontrolní.

Samčí potomci byli testováni v několika behaviorálních testech. Testy na paměť - Novel object recognition test a Object location test, test učení a paměti – Morrisovo vodní bludiště, test na motorickou aktivitu – Voluntary running test a test na aktivitu v neznámém prostředí – Laboras.

Zjistili jsme, že prenatální expozice MA měla za následek zvýšenou motorickou aktivitu v testu Voluntary running, OLT a Laboras. Prenatální hypoxie způsobila zvýšenou motorickou aktivitu v testu NORT, OLT a Voluntary running testu a poruchy učení v Morrisově vodním bludišti. V obou případech nelze charakterizovat použitý model jako zvířecí model ADHD.

Abstract

ADHD is a mental disorder with a heterogeneous origin. The number of patients suffering from ADHD is growing. The pathophysiological mechanisms causing ADHD have not been clarified yet. There are few rat models of ADHD - genetic models, chemically induced models (ethanol, nicotine, PCBs, 6-hydroxydopamine lesion) or environmentally induced models (hypoxia).

Methamphetamine is commonly used psychostimulant in the Czech Republic and is often abused by pregnant women. Methamphetamine may cause abnormalities in placenta and umbilical cord that result in hypoxia and malnutrition. Our previous studies showed that prenatal MA exposure leads to memory impairment, changes in NMDA receptors and changes in monoaminergic system

The aim of the present study was to test whether prenatal methamphetamine exposure (5 mg/kg) leads to symptoms of ADHD in comparison with prenatal hypoxia.

We found that adult male offspring prenatally exposed to methamphetamine presented hyperactivity in exploring an unknown environment.

In conclusion, rats exposed to methamphetamine *in utero* have shown changes in different types of behavior in adulthood prenatal hypoxia exposure.

Pregnant Wistar rats were divided into four groups based on their gestational exposure: (1) group was daily administered with subcutaneous injection of MA (5 mg/kg), (2) was injected with saline in the same time and volume, (3) group was affected by daily prenatal hypoxia (10 % O₂) for one hour, (4) group was control (without any injection). Male rat offspring were tested for their short term memory in Novel object recognition test and Object location test, for their learning and memory in Morris water maze and for their motor activity in Voluntary running test and in Laboras test for their activity in an unknown environment.

We found that prenatal MA exposure lead to increased motor activity in Voluntary running test, OLT and Laboras. Prenatal hypoxia caused increased motor activity in NORT, OLT and Voluntary running test and also caused learning impairment in Morris water maze. Both prenatal exposure models cannot be confirmed as valid animal models of ADHD.

Obsah:

1. Úvod	14
2. ADHD	14
2.1. Patogeneze a patofyziologie ADHD.....	16
a. Genetika	16
b. Změny centrální nervové soustavy	16
c. Prenatální a environmentální faktory	20
2.2. Zvířecí modely ADHD	22
a. Genetické modely	23
b. Farmakologické modely.....	25
3. Prenatální hypoxie.....	28
4. Teorie metamfetaminu	31
4.1. Metamfetamin a jeho účinky	33
a. Farmakokinetika	33
b. Farmakodynamika.....	35
c. Nežádoucí účinky metamfetaminu	36
d. Prenatální účinky metamfetaminu	42
e. Experimentální studie prenatálních účinků metamfetaminu	45
5. Hypotéza a cíl práce	48
6. Materiál a Metodika	49
6.1. Chov zvířat	49
6.2. Fertilizace	49
6.3. Prenatální a postnatální péče	49
6.4. Behaviorální testy	51
a. Novel object recognition test (NORT)	51
b. Object location test (OLT).....	53

c. Voluntary running.....	53
d. Laboras.....	54
e. Morrisovo vodní bludiště.....	55
7. Statistická analýza dat	58
8. Výsledky.....	59
8.1. Novel object recognition test (NORT)	59
Vliv prenatální expozice.....	59
8.2. Object location test (OLT).....	59
Vliv prenatální expozice.....	59
8.3. Voluntary running.....	63
Vliv prenatální expozice.....	63
8.4. Laboras	65
8.5. Morrisovo vodní bludiště.....	67
9. Diskuze.....	72
9.1. NORT a OLT	72
9.2. Voluntary running test	76
9.3. Laboras	78
9.4. Morrisovo vodní bludiště.....	80
10. Shrnutí vlivu prenatální aplikace MA a hypoxie na příznaky podobné ADHD	85
11. Závěr.....	87
12. Seznam použité literatury:.....	89
13. Seznam obrázků	151
14. Publikace a prezentace autora	152
14.1. Publikace in extenso	152
14.2. Prezentace a abstrakta	152
15. Seznam příloh.....	154

1. Úvod

Psychiatrická onemocnění představují závažný problém naší společnosti. Týkají se všech věkových kategorií a čím dál častěji postihují i děti. Za posledních 20 let se zvýšil počet dětí se závažnou poruchou chování čtyřnásobně. Nelze však s určitostí říci, jestli se tak děje z důvodu lepší diagnostiky těchto onemocnění nebo z jiné příčiny (Příhodová 2011). Mezi nejčastější poruchy chování patří ADHD, porucha pozornosti či hyperaktivita (Theiner 2012). Náklady na léčbu těchto pacientů stoupají. Ať už se jedná o vyšší spotřebu léčiv nebo druhotné náklady, jako např. specifické potřeby těchto pacientů během školní docházky. V USA školský systém stojí roční péče o studenta s ADHD 5 000 dolarů, zatímco náklady na běžného studenta jsou okolo 318 dolarů (Robb et al. 2011).

2. ADHD

ADHD (Attention Deficit nad Hyperactivity Disorder) je heterogenní neurovývojová porucha založená na kombinaci genetických a environmentálních faktorů. V České republice (ČR) se také označuje jako hyperkinetická porucha. Poprvé byla tato choroba popsána skotským lékařem Crichtonem v roce 1798. Je charakterizována nepozorností, impulzivitou a hyperaktivitou jedince. Podle dřívějších teorií je podkladem ADHD porucha inhibičních mechanismů. Porucha pozornosti je pak chápána jako důsledek této nedostatečné inhibice. Pacienti s ADHD nejsou schopni potlačit rušivé myšlenky a podněty, odložit akci a odměnu, podržovat své chování vnitřní kontrole (Barkley 1997). V současné době spočívá diagnostika tohoto onemocnění v rozpoznání symptomů hyperaktivity/impulzivity, které se mohou projevit v jakémkoli věku. Nejčastěji však bývá diagnostikována v dětství, přičemž symptomy mohou přetrvávat do dospělosti (Smith 2016, Reale et al. 2017). Dále jsou dle diagnostických kritérií

Americké psychiatrické společnosti (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders, fifth edition: DSM-5; American Psychiatric Association) rozlišovány tři podtypy: ADHD s převládající poruchou pozornosti, ADHD s převládající hyperaktivitou a impulzivitou a smíšený typ ADHD. Jelikož stále nebyly přesně definovány žádné spolehlivé biologické markery onemocnění, bývá diagnostikováno na základě pozorovaných poruch chování jedince (nejčastěji dítěte) (Luo et al. 2019). Odborníci se shodují, že přestože některé příznaky se mohou projevit už v kojeneckém věku (např. problém s biorytmy, nebo přeskočení fáze psychomotorického vývoje), lze ADHD spolehlivě diagnostikovat nejdříve v 7 letech věku (Příhodová 2011). Mezi nejčastější poruchy chování vyskytující se v tomto věku patří neklid, neschopnost vydržet na jednom místě, problémy s obsluhou sebe sama nebo zapomětivost. Ve školním věku mají tito jedinci problém udržet pozornost během výuky, naplánovat si činnosti, dokončit úkoly, respektovat autoritu učitele aj. Často se vyskytuje přidružená porucha učení jako dyslexie, dysgrafie nebo dyskalkulie, což má za následek horší vzdělávací výsledky popř. horší uplatnění na trhu práce (Příhodová 2011, Malá 2012). V dospívání a dospělosti dochází k ustoupení příznaků hyperaktivity a začne se projevovat spíše vnitřní neklid. Jedinci s ADHD častěji vykazují asociální chování, zneužívání návykových látek nebo alkoholu, parasomnií, bipolární afektivní poruchu, depresivní nebo anxiózní stavy či psychosomatické poruchy (Asherson 2016, Luo et al. 2019). Také se ADHD může projevit spolu s dalšími poruchami nervové soustavy, jako jsou poruchy autistického spektra, Tourettův syndrom nebo poruchy opozičního vzdoru. Jedinci s diagnózou ADHD mají obecně nižší IQ a další poruchy intelektu (Thapar et al. 2013). Prevalence je celosvětově odhadována na 8-12 %, přičemž se častěji vyskytuje u chlapců (Příhodová 2011).

2.1. Patogeneze a patofyziologie ADHD

a. Genetika

Přestože patří ADHD mezi nejvíce zkoumaná psychiatrická onemocnění, přesná příčina vzniku je stále nejasná. Příčiny vzniku tohoto onemocnění jsou multifaktoriální, největší vliv má však pravděpodobně dědičnost (až 70 %). Bylo popsáno několik typů kandidátních genů, z nichž nejvíce prozkoumanými jsou varianty dopaminergního receptoru D4 (Swanson et al. 2000) a dopaminergního aktivního transportéru (DAT1) (Bobb et al. 1997). Spojitost mezi geny kódujícími dopaminové dráhy a patogenezi ADHD byla opakovaně potvrzena, i když samotná přítomnost některé z dotčených variant genů však není pro rozvinutí ADHD nutná (Gizer et al. 2009). Významná pro rozvoj onemocnění byla s určitostí sledována přítomnost variant genů dopaminových receptorů D4 a D5 a genů, které kódují zejména dopaminergní nebo serotoninergní přenos (Bobb et al. 2006, Thapar et al. 2013).

b. Změny centrální nervové soustavy

Zobrazovacími metodami byla zjištěna řada odchylek centrální nervové soustavy (CNS) spojených s ADHD oproti normě (Příhodová 2011). Byly popsány změny objemů různých částí mozku: menší objem celého mozku (o 3-8 %), který přetrvává do dospělosti, zmenšený objem bazálních ganglií, zmenšené corpus callosum nebo menší objem mozečkových hemisfér a části vermis (o 12 %) (Hill et al. 2003).

Dopaminová teorie je jednou z hlavních teorií patofyziologie ADHD (Tripp et al. 2008, Volkow et al. 2009). Opírá se i o mechanismus účinku léčiv schválených k terapii tohoto onemocnění (metylfenidát a amfetamin), které ovlivňují dopaminergní přenos v mozku (Wu et al. 2012). Dopamin (DA) hraje důležitou roli při řízení motorických funkcí. DA se váže na 5 typů dopaminergních receptorů (D₁-D₅). Aktivace 1. typu receptorů (patří sem receptory D₁ a

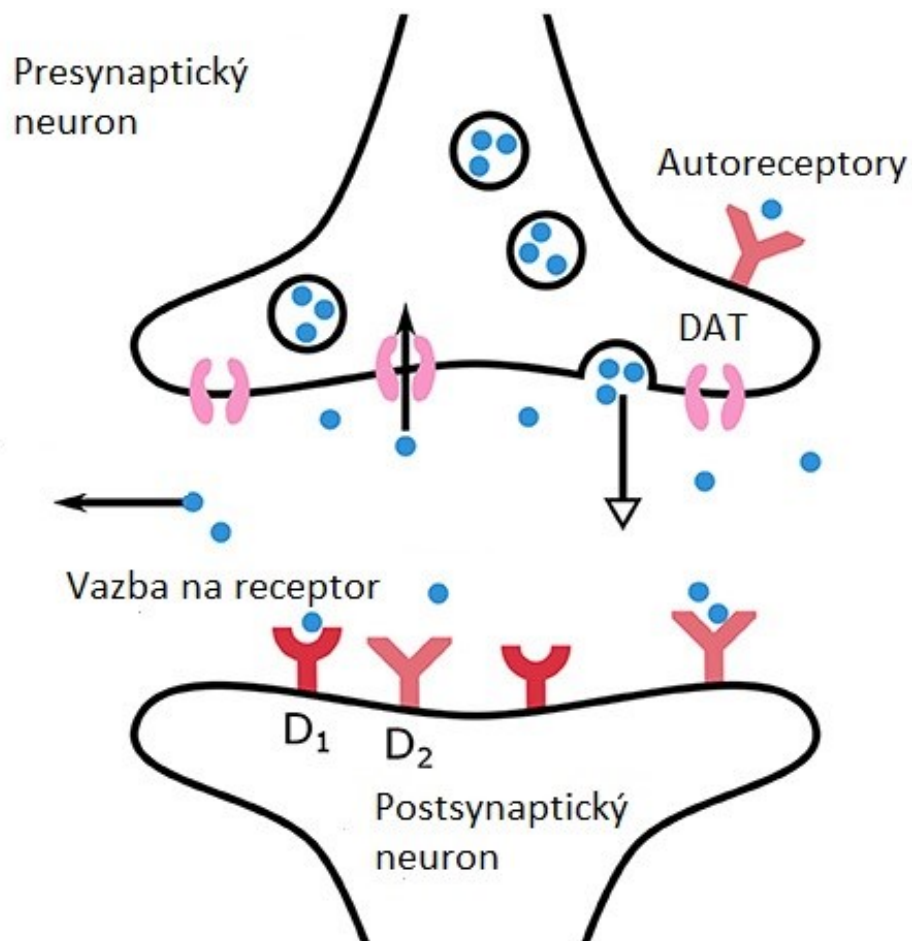
D₅) vede ke stimulaci adenylát cyklázy, zatímco aktivace 2. typu receptorů (D₂, D₃, D₄) vede k inhibici adenylát cyklázy, což snižuje produkci cAMP (Neve and Neve 1997). Podle toho, na který receptor se váže, může mít buď excitační nebo inhibiční úlohu v CNS. Přesná funkce DA v patofyziologii ADHD je díky jeho excitační i inhibiční roli komplikovaná. Toto onemocnění může mít původ v deficitu dopaminu v korových strukturách mozku – prefrontálním kortexu, subkortikálních oblastech – nucleus accumbens a striatu (Russell et al. 1995). Tyto mozkové struktury obsahují velké množství dopaminových receptorů (Lou et al. 1989). Dopaminergní neurony se dále nacházejí v substantia nigra, ventrální tegmentální oblasti a hipokampální formaci. Také prefrontální kortex obsahuje velké množství dopaminergních neuronů. Dopaminergní neurony hrají obecně roli v motorické aktivitě jedinců a také ovlivňují kognitivní funkce, prefrontální kortex zajišťuje rozhodování jedince a koordinaci pohybů (Diamond 1996). V další části bazálních ganglií, striatu, byl u pacientů popsán snížený průtok krve a změny v dopaminových transportérech (Lou et al. 1989, Dougherty et al. 1999).

V mozku existují čtyři hlavní projekce dopaminergního systému. Mezolimbická, mezokortikální, nigrostriatální a tubero-infundibulární.

Mezolimbická a mezokortikální jsou zapojeny v patofyziologii ADHD. Dysregulace u mezolimbické projekce se u pacientů s ADHD vyznačuje preferencí krátkých a okamžitých odměn před většími a oddálenými odměnami. Dopaminová dráha, která projikuje z ventrální tegmentální oblasti mezimozku do nucleus accumbens ve ventrálním striatu se účastní v systému odměny a motivace. Deficity v této oblasti tvoří základ pro dopaminovou teorii vzniku ADHD. Pacienti s ADHD mají problémy s dokončením činností, a to zejména z důvodu nedostatku motivace (Tripp et al. 2008, Volkow et al. 2009).

Mezokortikální dráha se účastní pozornosti a pracovní paměti. Dysregulace v této oblasti je popisována jako hyperdopaminerní (Davids et al. 2002) nebo naopak hypodopaminerní (Ohno 2003).

Nigrostriatální projekce se patofyziologie ADHD také účastní, a to ve spojitosti s hyperaktivitou. Účinnost DAT, který reguluje dopaminerní neurotransmisi, je u dospělých potlačena metylfenidátem (Krause et al. 2000). Dysfunkce nigrostriatální dráhy se může u pacientů s ADHD také projevovat jako porucha koordinace pohybů (Kadesjo and Gillberg 2002).



Obr.1 Dopaminerní přenos mezi neurony (Véronneau-Veilleux et al. 2022)

Funkční magnetickou rezonancí (fMRI) byly prokázány změny mozkové aktivity kromě bazálních ganglií také v mozečku a parietálním laloku. Při testech motoriky a pozornosti byla u pacientů patrná snížená neuronální aktivita ve fronto-striatálních okruzích (Silk et al. 2005)

nebo ve ventrálním striatu u adolescentů (Scheres et al. 2007). Důležité bylo zejména zjištění o sníženém objemu nucleus caudatus a globus pallidus u pacientů s ADHD (Lou et al. 1989).

Magnetickou rezonancí bylo prokázáno snížení objemu v levém orbitofrontálním kortexu u dospělých pacientů s ADHD (Hesslinger et al. 2002). Stejnou metodou byly zjištěny snížené objemy v dalších částech mozku, které jsou primárně zodpovědné za pozornost a vnímání (prefrontální kortex a přední cingulární kortex) (Seidman et al. 2006). V jiných studiích bylo prokázáno, že snížené objemy některých částí mozku, zejména prefrontálního kortexu, mozečku, corpus callosum a bazálních ganglií se vyskytují i u pacientů s ADHD (Castellanos et al. 2002). Obdobná studie z roku 2008 prováděná na dospělých pacientech s ADHD však žádné změny v morfologii hipokampu nebo amygdaly neprokázala (Perlov et al. 2008).



Obr.2: Příklad redukce levého orbitofrontálního kortexu u pacienta s ADHD (Hesslinger et al. 2002)

c. Prenatální a environmentální faktory

Důležitými faktory, které mají vliv na vznik ADHD jsou faktory týkající se porodu a komplikací během těhotenství obecně. Bylo zjištěno, že předčasný porod (dříve než ve 37. týdnu) a extrémně předčasný (dříve než ve 28. týdnu) má vliv na vznik onemocnění. Stejně tak je tomu i u porodní hmotnosti. U dětí s nízkou (méně než 2500 g) a extrémně nízkou (méně než 1500 g) porodní hmotností byl rovněž zjištěn vyšší výskyt onemocnění. S výše uvedeným souvisí rovněž nízké Apgar skóre (nižší než 4), které je dalším rizikovým faktorem (Halmøy et al. 2012). Rovněž eklampsie, preeklampsie, vysoký krevní tlak matky nebo novorozenecká asfyxie, které mají za následek hypoxii plodu nebo úrazy s následným krvácením do mozku mají vliv na vznik onemocnění. Hypoxie-ischemie jsou primárními příčinami nižší porodní hmotnosti, mají za následek nedostatečný přísun nutrientů nebo kyslíku během těhotenství (Lou 1996, Smith 2016). Také epilepsie matky byla zjištěna jako rizikové onemocnění pro vznik ADHD (Gonzalez-Heydrich et al. 2012).

Významnou roli má kromě přímé dědičnosti i vliv prostředí, ve kterém jedinec vyrůstá, např. negativní vztah matka-dítě. U jedinců trpících ADHD byla celkově zjištěna vyšší míra dysfunkčního rodinného prostředí, jako jsou už zmíněné: špatný vztah s matkou, problémové chování vycházející z těchto vztahů, nízká podpora rodičů během dospívání aj. (Chang et al. 2017). Jako rizikový faktor byl taktéž popsán nízký věk matky během těhotenství (Claycomb et al. 2004, Smidts et al. 2007). Vliv má nepochybně i stres matky po dobu těhotenství nebo další psychiatrická onemocnění jako změny nálad nebo úzkosti (Glover 2011, Ronald et al. 2011). Určitou roli hraje i stravování matky během těhotenství, např. nedostatek hořčíku, zinku nebo polynenasycených mastných kyselin (Arnold et al. 2005, Kozielc et al. 1997, Spahis et al. 2008).

Další příčinou pro vznik onemocnění jsou environmentální faktory. Některé studie uvádějí, že 10-40 % všech diagnostikovaných ADHD je způsobeno prenatálními environmentálními vlivy (Sciberras et al. 2017). Vývoj plodu ovlivňuje konzumace drog v těhotenství. Prenatální expozice kokainu vyvolává u dětí některé z příznaků ADHD (Ackerman et al. 2008, Lambert and Bauer 2012), konkrétně poruchy pozornosti a změny v reakcích při testech pozornosti (Accornero et al. 2007). Podobně jako u kokainu, také u metamfetaminu (MA) exponovanými dětmi se rozvinuly některé z poruch pozornosti (Kiblawi et al. 2013). U dětí mezi 3. a 5. rokem věku byly popsány i další poruchy chování jako anxieta, deprese a zvýšená emoční reaktivita (LaGasse et al. 2012). Co se týče dalších syntetických látek, v moči dětí trpících ADHD byly naměřeny vyšší koncentrace pesticidů - organofosfátů, konkrétně dimethyl alkylfosfátu (DMAP) (Bouchard et al. 2010). Později bylo potvrzeno, že dlouhodobá expozice pesticidům je považován za jednu z příčin vzniku ADHD a ASD (Roberts et al. 2019). Také prenatální expozice PCBs nebo olovu měla podobný efekt (Eubig et al. 2010).

Mezi nejvýznamnějšími faktory byl popsán vliv konzumace alkoholu nebo nikotinu/kouření během těhotenství. Některé studie uvádějí, že kouření matky během těhotenství má vliv pouze na ty symptomy ADHD, které jsou dány geneticky (Thapar et al. 2009). Konzumace alkoholu v těhotenství vede k narušení správného vývoje a vede k neurologickým a psychologickým poruchám u dítěte (Popova et al. 2016). Jelikož byly popsány teratogenní účinky alkoholu, je spojován také s řadou kognitivních poruch a poruch chování (Tsang et al. 2016, Flak et al. 2014). U dětí, jejichž matky v těhotenství alkohol konzumovaly, byly popsány některé symptomy ADHD (Graham et al. 2013, Infante et al. 2015, Knopik et al. 2006). U prenatální expozice nikotinu byly zjištěny podobné výsledky, tedy příznaky podobné ADHD nebo rozvoj onemocnění se všemi příznaky (Mick et al. 2002, Knopik et al. 2009, Knopik et al. 2010, Tiesler et al. 2014). Prenatální expozice nikotinu snižuje návrat dopaminu ve frontální kůře, taktéž ovlivňuje růst neuronů nebo syntézu DNA a RNA v mozku

plodu. Je tedy pravděpodobné, že je narušen správný vývoj mozku, což vede k některým ze symptomů onemocnění (Wakschalg et al. 1997, Biederman et al. 2012). Kombinace vlivu prenatalní expozice alkoholu a nikotinu má taktéž za následek příznaky podobné ADHD (Knopik et al. 2006) nebo je vzhledem ke kombinaci rizikových faktorů těžké určit, který z rizikových faktorů byl pro vznik onemocnění klíčový (Sundquist et al. 2014).

2.2.Zvířecí modely ADHD

Přesný původ a patofyziologie ADHD stále není známá. Zvířecí modely užívané při studiu tohoto onemocnění jsou tak odvozeny na základě symptomů za účelem nalézt nové cíle možné farmakologické terapie. Zvířecí modely psychiatrických onemocnění bývají posuzovány na základě tří kritérií: „Face validity“, „Construct validity“ a „Predictive validity“ (Russell 2011, de la Peña et al. 2018).

„Face validity“ odkazuje k podobnosti symptomů onemocnění u člověka a u zvířete. V případě ADHD by ideální zvířecí model měl zahrnovat tři klíčové symptomy a to: hyperaktivitu, impulzivitu a nepozornost. Patří sem i poruchy paměti a učení (Russell 2011, Sagvolden et al. 2012).

„Construct validity“ zahrnuje zejména podobnou etiologii nebo patofyziologický mechanismus, který vyvolá symptomy onemocnění. Jelikož přesná etiologie ADHD není známá, je tato cesta při hledání validního modelu značně limitující. ADHD je často spojena s dysfunkcí monoaminergního systému. Proto bývá „construct validity“ často založena na odchylkách monoaminegního systému (Leo and Gainetdinov et al. 2013).

„Predictive validity“ zahrnuje podobnou odpověď na farmakologickou, psychologickou nebo chirurgickou terapii. Což v případě zvířecího modelu ADHD znamená zejména úprava symptomů onemocnění pomocí farmakoterapie užívané u člověka (de la Peña et al. 2018).

Pro testování ADHD se tedy používá několik zvířecích modelů. Současné modely jsou velmi heterogenní, a to jak z hlediska patofyziologických variant, tak i z hlediska schopnosti prokazovat pouze některé z příznaků onemocnění. To limituje i možnosti potenciální experimentální farmakoterapie. Je náročné určit, který zvířecí model nejlépe reprezentuje onemocnění nebo některý jeho podtyp. Proto se u většiny popsanych zvířecích modelů používá spíše termín „ADHD-like symptoms“, tedy příznaky podobné ADHD (Sontag et al. 2010).

a. Genetické modely

Mezi genetické zvířecí modely ADHD patří: „spontaneously hypertensive rats“ (SHR), Wistar-Kyoto rat (WKY), Naples high excitability rat (NHE), a poté myší modely: Hyperactive running wheel mouse, Coloboma mutant mouse, Acallosal mouse, DAT-knock-out mouse, Thyroid receptor β mouse, Alpha-synuclein lacking mouse (Sontag et al. 2010, Russell et al. 2011, van der Kooij and Glennon 2007).

Nejčastěji používaným zvířecím modelem ADHD jsou „spontaneously hypertensive rats“ (SHR). SHR byly původně vyvinuty jako model hypertenze v roce 1963. Byla u nich ale pozorována zvýšená spontánní motorická aktivita. Proto byly později SHR uznány jako zvířecí model ADHD (Sagvolden 2000, Moser et al. 1988). Vykazují kromě hyperaktivity zejména impulzivitu a také poruchy učení. Pozorované příznaky souvisí pravděpodobně s poruchami fronto-striátálního systému. U SHR bylo popsáno zhoršené uvolňování DA v prefrontální kůře, nucleus accumbens a putamen (Russell et al 1995, Russell et al. 2000), ale u mladých SHR jedinců byl naopak zaznamenána zvýšená hladina DA ve striatu a prefrontálním kortexu (Viggiano et al. 2004). U mladých SHR jedinců byla také popsána zvýšená denzita D_1 a D_5 receptorů, tedy excitačních dopaminových receptorů, ve striatu a v nucleus accumbens (Carey et al. 1998). Enzym tyrosin-hydroxyláza je u SHR hypoexprimován, zatímco u jiného zvířecího modelu, NHE je hyperexprimován. Dopaminový transportér je hyperexprimován u obou

modelů. U SHR bylo však popsáno snížené vychytávání DA, které bylo způsobené sníženou aktivitou DAT transportéru (Viggiano et al. 2004). Taktéž byly u SHR popsány změny v noradrenergním systému, konkrétně zvýšená koncentrace noradrenalinu (NA) v locus coeruleus, substantia nigra a prefrontálním kortexu (de Villiers et al. 1995). U tohoto modelu je ale limitujícím faktorem právě hypertenze, zvýšený krevní tlak, který rovněž ovlivňuje chování. Hypertenze navíc s výskytem ADHD v klinické praxi spojená není (Sontag et al. 2010). Další nevýhodou tohoto zvířecího modelu je nepředvídatelnost reakcí na léčbu ADHD – metylfenidátem a amfetaminem (van der Kooij and Glennon 2007). Aplikace amfetaminu nebo metylfenidátu vedla u SHR ke zvýšení uvolňování DA ve striatu a prefrontálním kortexu (Russell et al. 1998). Podání amfetaminu SHR dokonce vedlo ke zvýšení hyperaktivity, místo aby ji potlačilo (Hynes et al. 1985, McCarty 1980). Stejně reakce byly popsány i po podání metylfenidátu (Amini et al. 2004).

Wistar-Kyoto hyperactive rat byly vyšlechtěny za účelem zlepšení vlastností SHR, hlavně separace hypertenze a hyperaktivity (Hendley and Ohlsson 1991). Byl vyvinut kmen Wistar-Kyoto hyperreactive rat (WKHA), který ale přehnaně reagoval na stres. U WKHA byly popsány poruchy učení (Sagvolden et al. 1992), zároveň se ale rychleji habituovali než SHR (Hendley and Ohlsson 1991).

Lokomoční aktivita je zvýšená jak u WKY, tak u WKHA (Drolet et al. 2002). Po aplikaci metylfenidátu došlo u WKY ke zvýšené lokomoční aktivitě při exploraci neznámého prostředí, zatímco u WKHY došlo ke snížení pohybové aktivity. Tento rozdíl v chování na aplikaci metylfenidátu je dán upregulací NGFI-B, transkripčního faktoru dopaminergního systému ve striatu u kmene WKY. Nevýhodou těchto modelů je tedy, podobně jako u SHR jejich neadekvátní reakce na podání léčby (metylfenidátu nebo amfetaminu). Dále pak u tohoto modelu máme nedostatek informací o změnách v dopaminergním systému, které se u ADHD běžně vyskytují (van der Kooij and Glennon 2007).

„Naples high excitability rats“ byly selektovány na základě hyperaktivního chování v Látově bludišti. Jejich hyperaktivita spočívá v reakcích na nové prostředí, neprojevuje se jako hyperaktivita při běžném chování (Sadile et al. 1993). Kromě hyperaktivity se u nich projevují také problémy s pozorností a na rozdíl od SHR netrpí arteriální hypertenzí (Cerbone et al. 1993). Co se týče deficitů v dopaminergním systému, byla u NHE popsána hyperexprese DAT a i jeho aktivita byla vyšší (ve srovnání s SHR). Také byla popsána downregulace mRNA D1 receptoru (Viggiano et al. 2004). Dalším popsáním deficitem dopaminergního systému je hyperfunkce a hyperinervace mezokortikální dopaminergní dráhy (Viggiano et al. 2003). U tohoto genetického modelu nebyly provedeny žádné pokusy s aplikací léčiv. Pro validitu modelu je to ale nezbytné (van der Kooij and Glennon 2007).



Obr.3 Spontaneously Hypertensive Rat (Charles river laboratories 2022)

b. Farmakologické modely

Dalšími modely ADHD jsou modely farmakologické. Patří sem jak prenatální, tak i neonatální hypoxie. Prenatální hypoxie má významný vliv na fetální vývoj mozku a může u potkanů vyvolat ADHD-like hyperaktivitu (Dell'Anna et al. 1993, Oorschot et al. 2007, Miguel et al. 2015). Období prenatálního a neonatálního vývoje je důležité rovněž pro rozvoj kognitivních funkcí, tedy učení a paměti, a jakékoli poškození těchto struktur mozku může

vyústit ve změny v architektuře neuronální sítě a negativně se projevit v pozdějších fázích života (Nalivaeva et al. 2018, Maccari et al. 2016, Kwiatkowski et al. 2014). Taktéž byl popsán vliv hypoxie na hladiny jednotlivých neurotransmiterů. Akutní efekt způsobí snížení NA v kortexu a DA ve striatu a zvýší koncentraci 5-hydroxyindolactové kyseliny (5-HIAA) v obou částech mozku (Dell'Anna et al. 1993). V jiné studii byl popsán vliv postnatální intermitentní hypoxie na snížení hladiny extracelulárního DA a také na změny chování jedinců, konkrétně byla zvýšena aktivita při poznávání nových prostor (Decker et al. 2005). Hypoxie také vede k buněčné smrti buněk hipokampu a k poruchám prostorové paměti (Takada et al. 2015). Prenatální hypoxie aplikovaná mezi 4.- 21. dnem gravidity způsobila u potkanů poruchy paměti a snížila expresi tří N-metyl D-aspartátových (NMDA) podjednotek hipokampu (Wei et al. 2016).

Častěji užívaným modelem je však neonatální hypoxie. Mozek laboratorního potkana dozrává částečně až v postnatálním období, zatímco u člověka většina vývoje proběhne do 40. týdne gravidity. Ke konečnému zrání nervových buněk, dozrávání synaptických spojení a jejich myelinizaci dochází u člověka mezi 34. – 36. týdnem gravidity, přičemž vrchol neurogeneze proběhne kolem 40. týdne gravidity. U potkanů tyto procesy probíhají postnatálně, až do 21. postnatálního dne (Clancy et al. 2007). K nejvýznamnějším změnám v šedé hmotě u potkanů dochází během prvních 5 PD (Bockhorst et al. 2008).

Neonatální hypoxie způsobila u potkanů hyperaktivitu i poruchy učení, a to aplikovaná v různé postnatální dny, PD 2 (Dell'Anna et al. 1991), PD 4 (Shimomura and Otha 1988) nebo PD 10 (Decker et al. 2003), přičemž u některých modelů došlo v pozdějším věku k normalizaci hyperaktivity (Shimomura and Otha 1988). Postnatální nebo neonatální hypoxie způsobila změny v CNS, vedla k apoptóze neuronů v kortexu a hipokampu (Dell'Anna et al. 1995). Také dopaminergní neurony byly postiženy, a to konkrétně zvýšením počtu VMAT2 a D1 receptorů

ve striatu (Decker et al. 2003). D1 receptor hraje roli v patofyziologii ADHD (Misener et al. 2004). V terapii hypoxií vyvolané hyperaktivity byl účinný amfetamin (Speiser et al. 1983).

Další možností modulace hyperaktivity u potkanů je postnatální (5. PD) podání 6-OHDA, což je látka způsobující narušení katecholaminového neurotransmisního systému. 6-OHDA je toxický jak pro dopaminergní tak pro noradrenergní neurony a ovlivňuje tak DA a NA neurotransmisi v mozku (Shaywitz et al. 1976).

Aplikace 6-OHDA měla rozsáhlé behaviorální důsledky. Mezi 12. a 22. dnem byla u mláďat pozorována hyperaktivita (Shaywitz et al. 1976), popsány byly také poruchy učení a paměti (Archer et al. 1988). Také byly u tohoto modelu popsány změny na dopaminových transportérech. Motorická hyperaktivita těchto jedinců byla spojena s vyššími hladinami D4 receptorů ale ne s vyššími hladinami D2 receptorů ve striatu (Zhang et al. 2001, Zhang et al. 2002). Modulační role D4 receptoru na hyperaktivitu jedinců byla popsána i v dalších studiích (Avalle et al. 2004). Dále byl u tohoto modelu pozorován úbytek DAT a úbytek vazebných míst D1 receptoru (Thomas et al. 1998). Jedinci po aplikaci 6-OHDA také reagovali na farmakoterapii (metylfenidát, atomoxetin, amfetamin) užívanou k léčbě ADHD, přičemž u nich tyto látky snížily hyperaktivitu (Shaywitz et al. 1978, Moran-Gates et al. 2005, Zhang et al. 2001).

ADHD-like hyperaktivitu způsobila také aplikace látek (dexametazon, difluormethylornitin, methylazoxymetanol) poškozujících mozeček, přičemž nejúčinnější se jevil methylazoxymetanol. Jeho aplikace však nevyvolala u zvířat kognitivní deficit (Ferguson et al. 1996). U chlapců s diagnózou ADHD byl zjištěn menší objem mozečku (Castellanos et al. 1996, Durston et al. 2004).

Mezi rizikové faktory vzniku ADHD patří i aplikace jiných drog nebo toxických látek během gravidity. Patří sem i kouření či nikotinová substituční terapie během těhotenství. Prenatální expozice nikotinu snižuje návrat dopaminu ve frontální kůře (Bush et al. 2000,

Knopik 2009, 2010, Zhu et al. 2014). Riziková je taktéž prenatální expozice alkoholu u zvířat (Gilbertson and Barron 2005). Tyto mechanismy se používají k navození ADHD také u zvířecích modelů (Russel 2011, Tiesler et al. 2014, Atalar et al. 2016). Morfologické změny placenty a pupečníku, které mohou mít za následek prenatální hypoxii a ischemii, mohou být vyvolány i v důsledku užívání drog, např. MA. Prenatální ischemie měla u potkanů vliv na kognitivní vlastnosti, poruchy prostorové a pracovní paměti (Delcour et al. 2012).

3. Prenatální hypoxie

Jako hypoxie je označován stav, kdy tělní tkáně nejsou dostatečně zásobeny kyslíkem. Přesněji definováno saturace kyslíkem klesne pod 90 %. Vzniká tak dysbalance mezi přísunem a potřebou kyslíku. Aerobní organismy využívají kyslík zejména jako finální akceptor elektronů v dýchacím řetězci probíhající na vnitřní membráně mitochondrií. Na tento proces navazuje oxidativní fosforylace. Tímto způsobem získává buňka energii ve formě ATP. Molekula ATP je pak využita v dalších reakcích. V normoxických podmínkách si buňka udržuje konstantní hladinu ATP nutnou ke svému přežití. Následkem hypoxie je tedy neschopnost buněk získat energii a vykonávat svou funkci v organismu (Gilani and Vafakhah 2010).

Mozek je považován za orgán, který je, díky své vysoké spotřebě kyslíku, na následky hypoxie nejcitlivější. Platí to i pro vyvíjející se mozek plodu v těle matky během těhotenství. Dostatečný přísun nutrientů a zejména kyslíku během celého těhotenství, a i během porodu je pro správný vývoj plodu nezbytný. Prenatální hypoxie negativně ovlivňuje vývoj plodu (Sab et al. 2013, Vlassaks et al. 2013).

Hypoxie způsobuje změny v metabolismu buňky. Přestože si buňky plodu vytvořily kompenzační mechanismy coby odpověď na hypoxii, nedokáží tyto mechanismy vyvíjející se mozek plodu dostatečně ochránit proti chronickému působení hypoxie (Nalivaeva et al. 2003).

Pokud prenatální hypoxie působí na plod během období kritického pro maturaci mozku a CNS obecně, může způsobit apoptózu neuronů (Piešová et al. 2020). Prenatální hypoxie je hlavní příčinou poruch vývoje nervové soustavy u novorozenců (Golan et al. 2009). Jelikož negativně ovlivňuje vývoj nervové soustavy, má spojitost s řadou onemocnění CNS. V mnoha studiích bylo prokázáno, že je spojena s vysokým rizikem poruch motoriky a také behaviorálních a kognitivních poruch (Sab et al. 2013). Dále také významně ovlivňují dozrávání nervové soustavy v postnatálním období a zvyšuje její vulnerabilitu k pozdějšímu rozvoji neurodegenerativních i jiných onemocnění CNS (Babenko et al. 2015).

Období prenatálního vývoje a časně postnatální období vývoje člověka hraje důležitou roli ve formování kognitivních funkcí CNS jako je učení a paměť (Nalivaeva et al. 2018). Prenatální hypoxie vede ke zvýšenému riziku ASD a také ADHD (van Handel et al. 2007, Getahun et al. 2013, Miguel et al. 2015). Prenatální asfyxie u potkanů vedla k rozvoji behaviorálních změn, které nesly známky ADHD, zejména hyperaktivity (Dubovický et al. 2007). Incidence nízké porodní váhy novorozence a předčasného porodu je u matek, které během těhotenství byly vystaveny hypoxii nebo asfyxii až 60 % (Vannucci 2000). 20 – 50 % novorozenců pak trpělo encefalopatií po vystavení působení hypoxie, 25 % z nich pak trpělo trvalým poškozením mozku (Vannucci and Hagberg 2004). V jiné studii bylo prokázáno, že incidence kognitivních deficitů je u předčasně narozených dětí mnohem vyšší (30 %) než incidence motorických deficitů (10 %) (Beaino et al. 2011), přičemž většina kognitivních deficitů je spojena s poruchami paměti a učení nebo přímo s ADHD (Delobel-Ayoub et al. 2009, Rose et al. 2011).

U člověka bylo popsáno, že prenatální hypoxie může způsobit selektivní vulnerabilitu mesencefalických dopaminergních neuronů a ovlivnit noradrenergní neurony v locus coeruleus způsobem imunoreaktivity tyrosin hydroxylázy, enzymu, který ovlivňuje syntézu katecholaminů. Oba tyto účinky předurčují jedince, kteří přežijí působení prenatální hypoxie

k psychiatrickým nebo neurologickým onemocněním v dospělosti (Pagida et al. 2016). Dysregulace dopaminergní neurotransmise hraje významnou roli v patofyziologii několika neurologických onemocnění, včetně ADHD (Pagida et al. 2013).

Co se týče animálních modelů, byla hypoxie nebo nedostatek nutrientů u plodu primární faktor vedoucí ke snížené porodní váze (Dubrovskaya and Zhuravin 2010, Iqbal et Ciriello 2013, Smith et al. 2016, Piešová et al. 2020), což je jeden z hlavních rizikových faktorů ADHD (Henriksen and Clausen 2002, Getahun et al. 2013). Prenatální hypoxie způsobila u březích potkaních samic preeklampsii (Zhou et al. 2013).

Podle některých autorů vedla hypoxie ke snížení celkové váhy mozku potkanů (Liu et al. 2011), jiné studie ale souvislost se snížením váhy mozku u novorozenců i 6-ti týdenních mláďat prokazují (Wei et al. 2016). Nejvýznamnější vliv má prenatální hypoxie na buněčnou skladbu jednotlivých částí mozku potkanů (kůra, hipokampus, striatum, mozeček) a také na degeneraci nervových buněk a jejich apoptózu (Zhuravin et al. 2006, Liu et al. 2011, Wang et al. 2017). Hypoxie dále mění excitabilitu kortikálních neuronů (Marešová et al. 2001). Prenatální hypoxie u potkanů také vedla ke změnám v koncentracích Ca^{2+} iontů. Po snížení koncentrace kyslíku bylo elektrodami zaznamenáno mírné zvýšení koncentrace Ca^{2+} iontů v extracelulárním prostoru doprovázené hyperpolarizací a vymizením elektrické aktivity mozku v měřené oblasti, konkrétně v oblasti CA1 hipokampu (Silver and Erecińska 1990).

Intermitentní prenatální hypoxie vede u potkanů k poruchám neuromotorického vývoje v rané fázi života (Dubrovskaya and Zhuravin 2010), také k vyšší lokomotorické aktivitě mladých jedinců v testu otevřeného pole, tedy jejich nedostatečné habituaci (Hermans et al. 1992). Dřívější studie také prokazují, že prenatální hypoxie vede k poruše motorických funkcí, zejména poruše jejich koordinace u dospělých jedinců (Jänicke and Coper 1994). Podle novějších studií jsou ale poruchy motorických funkcí, které jsou patrné zejména v rané postnatální fázi života později kompenzovány (Nalivaeva et al. 2018). Deficit v kognitivních

funkcích však obnoven v pozdějších fázích života není. Poškozena bývá pracovní, krátkodobá i dlouhodobá paměť (Nalivaeva et al. 2018, Zhuravin et al. 2011), což koreluje se strukturálními změnami popsány v hipokampu (Cunha-Rodriguez et al. 2018). V několika dalších studiích byl popsán vliv prenatální hypoxie na poruchy paměti (Sab et al. 2013, Wei et al. 2016, Zhuravin et al. 2019). Apoptóza neuronů hipokampu, spojovaná s hypoxií, způsobuje opoždění ve vývoji motorických reflexů (Golan et al. 2006). Hypoxie dále ovlivňuje funkci neuronů hipokampu (Vetrovoy et al. 2021a), které hrají roli v procesech spojených s pamětí a také ovlivňují motorický vývoj jedince (Sab et al. 2013). V hipokampu a také dalších částech mozku (talamu a striatu) byly popsány abnormality po expozici prenatální hypoxii (Robinson et al. 2018). Hypoxie dále vedla ke zvýšené anxietě v testu otevřeného pole a také k hyperaktivitě v testu vyvýšeného křížového bludiště (Piešová et al. 2020). Review z roku 2003 shrnuje případy novorozenců, kteří byli během porodu vystaveni hypoxii. Byly u nich popsány změny subkortikální dopaminergní aktivity, zejména u mezolimbické a mezokortikální dráhy (Boksa and El-Khondor 2003).

4. Teorie metamfetaminu

MA je jednou z nejčastěji zneužívaných drog na světě. Jedná se o syntetický stimulant, který je v mnoha zemích druhou nejpopulárnější drogou po marihuaně. MA byl poprvé syntetizován v roce 1887 v Německu chemikem rumunské národnosti Lazarem Edeleanu. Téměř ve stejné době (v roce 1893) byl v Japonsku syntetizován z efedrinu Nagai Nagoyashim (Grobler et al. 2011, Barr et al. 2006).

Během 2. světové války byl prodáván ve formě tablet pod obchodním názvem Pervitin. V tomto období byly tablety Pervitinu často užívány vojáky Wehrmachtu a Luftwafé pro své stimulační účinky. Jeho užívání udržovalo vojáky v bdělém stavu během válečné pohotovosti. Závažné nežádoucí účinky však vedly Wehrmacht k ukončení této praxe už v roce 1940

(Kamienski 2016). V Japonsku byl pro podobné účely používán piloty kamikadze. Během 50. a 60. let byl MA v USA velmi populární, jako anobezikum. Prodáván byl pod obchodním názvem Obetrol. Nežádoucí účinky a vysoké riziko vzniku závislosti však vedly k tomu, že byla tato látka postupně ve většině zemí postavena mimo zákon (Rasmussen 2008). V současné době je MA v USA distribuován pod obchodním názvem Desoxyn[®], produkován italskou společností Recordati. Indikován je při terapii ADHD a obezity (FDA 2017).



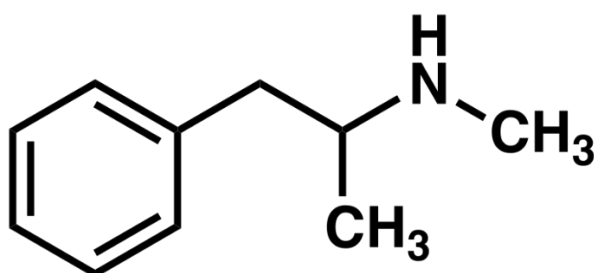
Obr.4: Desoxyn (RxList.com)

V roce 2010 bylo na světě vyprodukováno 45 tun MA. Podle United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) byl MA v roce 2012 na prvních příčkách nelegálně užívaných látek ve třinácti z patnácti států Severní Ameriky, Asie a Oceánie. Jeho spotřeba v daných státech vzrostla od roku 2008 až sedmkrát (Global SMART programme, 2013). V Evropě mezi státy s největší spotřebou a zároveň i produkcí patří dlouhodobě Česká republika, kterou následuje Slovensko. Z České republiky pochází většina evropské produkce MA, přičemž většinou se vyrábí v malých „domácích“ laboratořích. Těchto bylo v roce 2010 zachyceno 307.

Data uvedená ve Výroční zprávě o stavu ve věcech drog vydané v roce 2019 hovoří o 34 – 35 200 problémových uživatelích metamfetaminu. Odhadovaný počet problémových uživatelů opioidů je oproti tomu zhruba třetinový (10 400 osob) (Mravčík et al. 2019). MA začal pronikat na trh také do skandinávských zemí, kde nahrazuje jiné amfetaminy, a to zejména kvůli nižší ceně. Přestože mezi běžnou populací je jeho spotřeba relativně nízká, jeho obliba stále stoupá zejména mezi mladými a sociálně vyloučenými jedinci (EMCDDA Annual report 2012).

V roce 1977 byly zaznamenány první případy abúzu MA při kontrolách abúzu léčiv. MA je druhá nejrozšířenější droga v ČR po konopí. Také se jedná o nejrozšířenější synteticky připravenou drogu na našem území. V menší míře se MA objevuje v sousedních zemích (nejčastěji na Slovensku) a také ve východní Evropě. Ve věkové skupině 15 až 34 let se odhady uživatelů MA podle dostupných údajů pohybují okolo 3,6 %. Většinu závislých tvoří muži (2,6 %) (Mravčík et al. 2007, Mravčík 2019).

4.1. Metamfetamin a jeho účinky



Obr.5: metamfetamin (Sigma Aldrich 2022)

a. Farmakokinetika

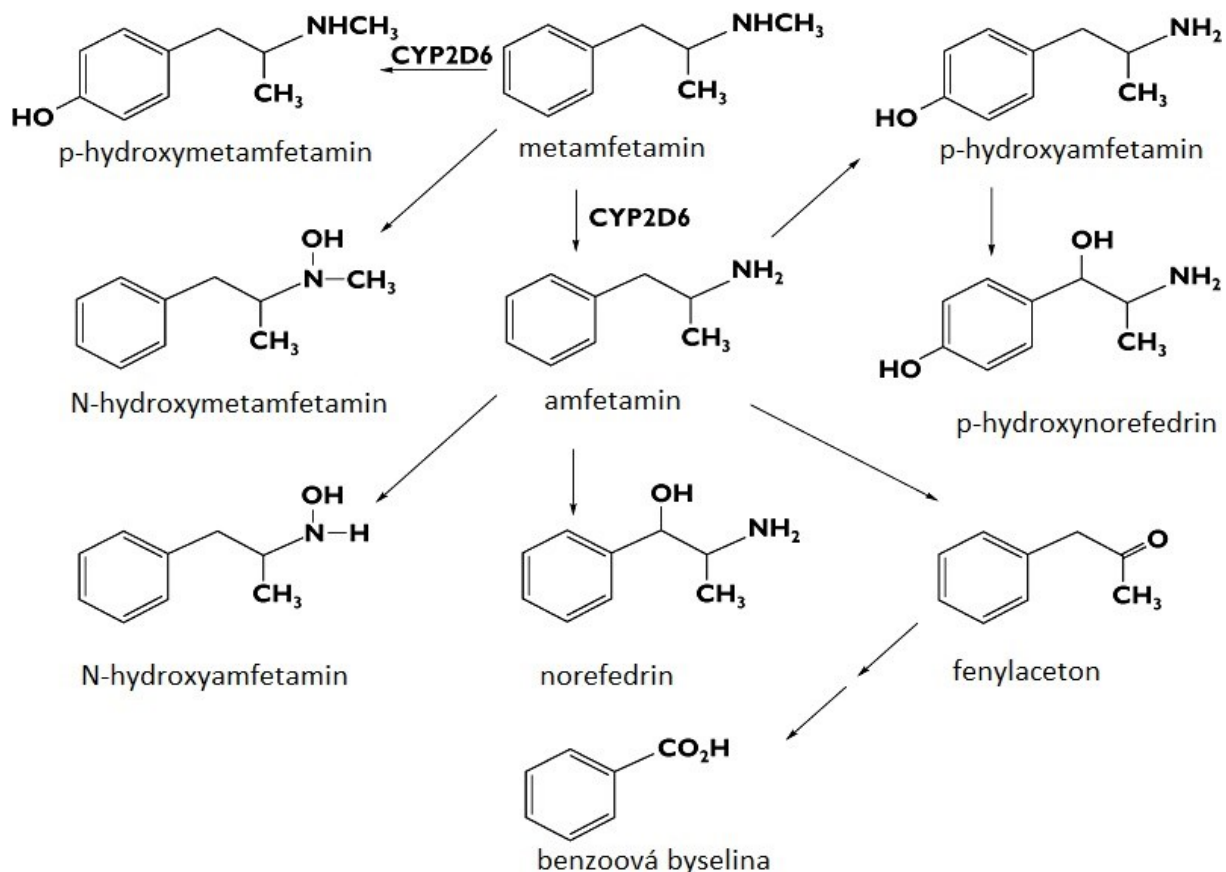
MA je syntetická látka, která patří mezi psychomotorická stimulantia. Strukturně se jedná o (2S)N-methyl-1-fenylpropan-2-amin, řadíme jej mezi amfetaminy. Je to lipofilní báze, snadno prostupuje plazmatickou membránou buněk, placentární bariérou a také

hematoencefalickou bariérou (Dattel 1990). Amfetaminy mají strukturu podobnou katecholaminům, mají proto srovnatelné biologické vlastnosti (viz. Farmakodynamika). MA může být užíván několika způsoby: perorálně, inhalačně (šňupáním nebo kouřením) nebo intravenózně (Winslow et al. 2007). Biologická dostupnost závisí na způsobu užití, nejvyšší je při intravenózním užití (až 100 %), vysoká je také při kouření (90 %), nasálním užití (75 % - 79 %) a nejnižší při perorálním (65 % - 67 %) (Cho et al. 2001, Cruickshank and Dyer 2009). Po podání je MA distribuován po celém těle.

Nejvyšší „uptake“ byl zaznamenán v plicích. Naopak nejrychlejší clearance byla zaznamenána v ledvinách (7-16 minut), nejpomalejší v mozku, játrech a žaludku (více než 75 minut) (Volkow et al. 2010).

V lidském těle je MA metabolizován především hydroxylací benzenového jádra a N-demethylací. Metabolismus probíhá v játrech za účasti cytochromu P450, podtypu CYP2D6. Jsou vytvořeny dva hlavní metabolity – parahydroxymetamfetamin a amfetamin. Hydroxylací amfetaminu vzniká NA.

Oxidací amfetaminu vzniká fenylaceton, který je poté oxidován na kyselinu benzoovou. (viz. Obr. 6). Produkty metabolismu MA jsou vyloučeny močí (Li et. al. 2010). Současné užívání léčiv metabolizovaných skrz CYP2D6, jako jsou např. inhibitory proteáz a inhibitory MAO, může vést ke zvýšení plazmatické koncentrace MA (Winslow et al. 2007).



Obr.6: Metabolismus metamfetaminu (Li et al. 2010)

b. Farmakodynamika

Amfetaminy jsou díky své strukturní podobnosti s různými neurotransmitery (DA, NA, serotonin) schopné aktivovat jejich receptory v CNS i na periférii. Katecholaminy jsou rozkládány enzymem monoaminoxidázou (MAO) v játrech. Amfetaminy obecně patří mezi kompetitivní inhibitory MAO (Panenka et al. 2013). MA obsahuje metyl- skupinu a díky tomu MAO degradován není. V CNS MA zvyšuje koncentraci daných neurotransmiterů blokováním jejich membránových transportérů (VMAT-2). Membránové transportéry za normálních okolností zpětně vychytávají monoaminy a ukládají je zpět do presynaptického zakončení. Pomocí VMAT-2 jsou zde uloženy do vezikul. MA poté, co je distribuován do nervového zakončení způsobí uvolnění monoaminů. Takto dochází k blokování zpětného vychytávání monoaminů a zvyšování jejich koncentrace v synaptické štěrbině (Sulzer et al. 2005).

Výsledkem je tedy zvýšená koncentrace monoaminů v synaptické štěrbině a jejich zvýšený účinek na postsynaptické receptory. MA také snižuje expresi dopaminových transportérů. Snižuje aktivitu MAO a zvyšuje aktivitu a expresi tyrozin-hydroxylázy - dopamin syntetizujícího enzymu (Barr et al. 2006, Iversen et al. 2013). MA dále působí na systém odměny modulací uvolňování DA. Ovlivňuje dva dopaminové transportéry na nervových zakončeních – DAT a VMAT-2 (Panenka et al. 2013).

Neurotransmitery jsou oxidovány MAO a auto-oxidovány, což vede k tvorbě volných radikálů. Ty jsou zodpovědné za neurotoxické účinky MA a způsobují nekrózu buňky (Davidson et al. 2001).

MA ovlivňuje i vylučování dalších neurotransmiterů, jako např. glutamát. Parenterální podání MA způsobuje uvolnění glutamátu ve striatu (Stephans et al. 1994). Tento způsob je dalším z potvrzených cest, jakými MA moduluje sekreci DA (Riddle et al. 2006).

c. Nežádoucí účinky metamfetaminu

Účinky na CNS

Účinek MA je závislý na dávce a způsobu podání, může nastoupit velmi rychle (Panenka et al. 2013). Účinek přetrvává 8 – 12 hodin, s důrazem na inter-individuální variabilitu ve farmakokinetice (Cruickshank and Dyer 2009, Šlamberová 2012). Po perorálním podání je MA vstřebáván z gastrointestinálního traktu, dochází k pomalému uvolňování nízkých hladin DA v nucleus accumbens a nucleus caudatus, intravenózní aplikace nebo kouření je mnohem účinnější, vede k uvolnění velkého množství neurotransmiteru (Davidson et al. 2001). Účinky MA na CNS jsou stimulační, droga v nižších dávkách (5-30 mg) zrychluje myšlení, zvyšuje komunikativnost, snižuje únavu nebo úzkosti a také celkově zvyšuje produktivitu jedince. Pro tyto účinky je MA zneužíván. (Cruickshank and Dyer 2009, Iversen et al. 2013, Meredith et al.

2005). Při opakované aplikaci vyšších dávek (20-50 mg), které jsou typické při zneužívání drogy, ale dochází k rozvoji nežádoucích účinků – akutní toxicity, změnám chování, poruchám kognitivních funkcí a poškozením CNS (Albertson et al. 1999, Barr et al. 2006, Cruickshank and Dyer 2009). U uživatelů MA se poté rozvíjí psychomotorická agitace, agrese, objevuje se stereotypní chování, dochází k bludům, halucinacím až akutní psychóze (Albertson et al. 1999, Bell 1973, Murray 1998). Při opakovaném užití navíc často dochází k toleranci, což vede uživatele k aplikaci stále vyšší dávky a také změny způsobu aplikace k rychlejšímu navození účinku (Riddle et al. 2002). Tolerance k účinku MA a také jeho neurotoxicitě při opakovaném podávání dávky 0,0625 mg/kg byla popsána už při studii prováděné na skupině makaků rhesus (Fischman and Schuster 2004). Chronická aplikace vede k dalším změnám chování jako úzkosti, deprese, sociální izolace, psychózy, změny nálad a také psychomotorické dysfunkce (Darke et al. 2008, Homer et al. 2008, Cruickshank and Dyer 2009). Neuropsychiatrické konsekvence užívání MA jsou spojeny se změnami, které aplikace drogy vyvolá v mozku jedinců (Scott et al. 2007).

Při odeznívání účinku dochází k psychickému i fyzickému vyčerpání, emoční labilitě, úzkostem a agresivitě (Homer et al. 2008, McKetin 2014). Akutní abstinenční syndrom trvá typicky 7-10 dní a zahrnuje řadu příznaků, jejichž závažnost a délka trvání závisí na způsobu podání, čistotě podané drogy, stupni intoxikace nebo také předchozí zkušenosti s abstinenčním syndromem. V akutní fázi se objevuje únava, úzkosti, podrážděnost, příbytek na váze, dehydratace, insomnie následovaná hypersomnií, anhedonie, toužení po droze („craving“), sociální izolace, dysforie, deprese až sebevražedné myšlenky. V další, post-akutní fázi se objevují deprese, rychlé změny nálad, toužení po droze, neschopnost cítit potěšení, sebevražedné myšlenky nebo zvýšený apetit. Reziduální symptomy spojené s neurotoxicitou MA mohou přetrvávat řadu měsíců (McGregor et al. 2005, Cruickshank and Dyer 2009, Pennay et al. 2011).

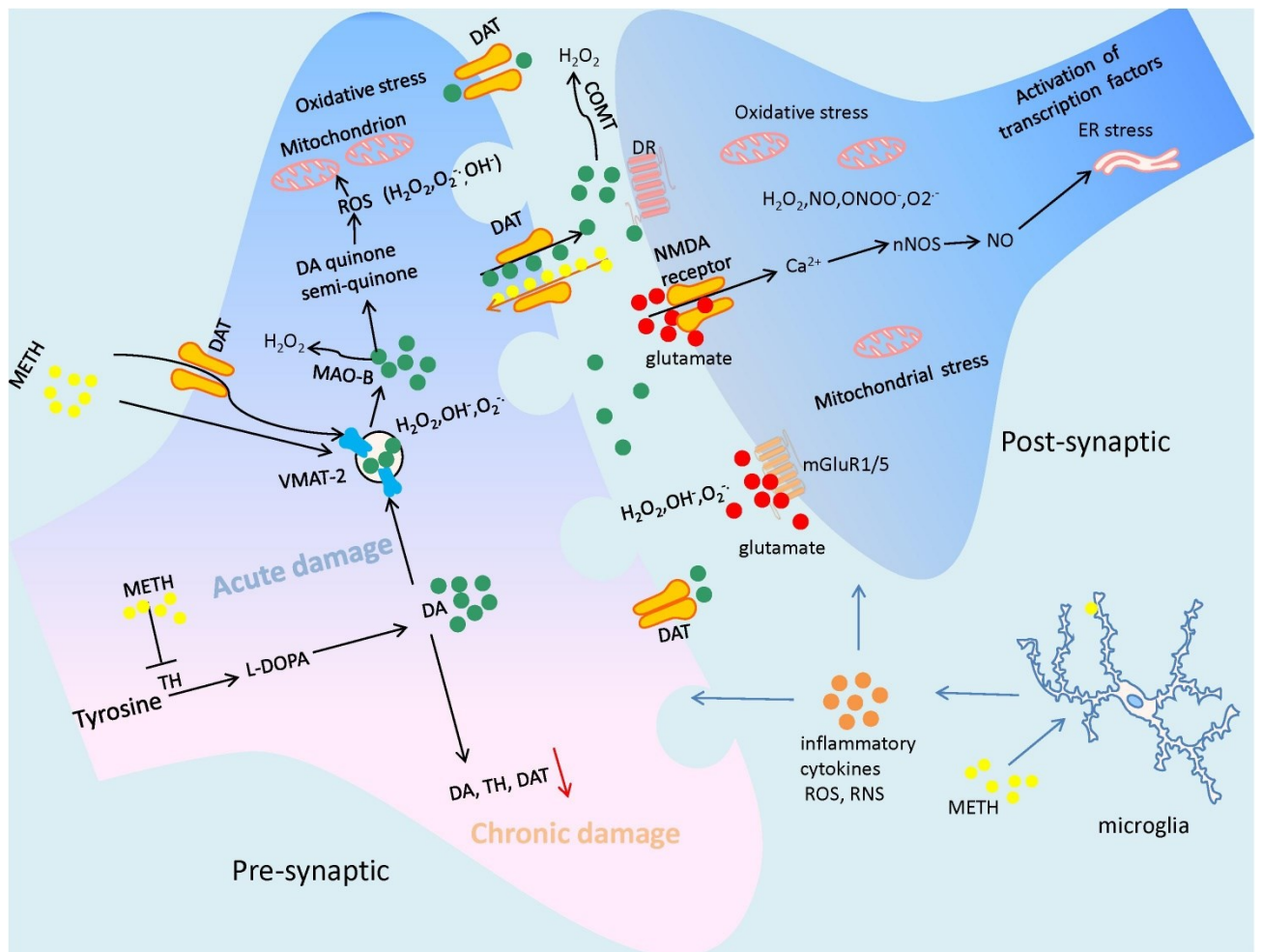
Neurotoxická

Opakovaná expozice amfetaminům vede k poškození dopaminergních a serotoninergních axonů. Selektivita neurotoxicity je způsobena oxidací DA a serotoninu v cytosolu na 6-hydroxydopamin a 5,6-dihydroxytryptamin, které pak oxidují proteiny a lipidy v neuronech obsahujících DA a serotonin. Dalším mechanismem neurotoxicity MA je zvýšení cerebrální teploty (Riddle et al. 2006). Zobrazovacími metodami (fMRI, MR, PET) bylo zjištěno, že aplikace MA způsobuje v mozku závislých jedinců nevratné neurodegenerativní změny (Chang et al. 2007, Aron and Paulus 2007). Jedná se o snížené hladiny dopaminových transportérů DAT v orbitofrontální kůře, dorsolaterální kůře a prefrontální kůře (Sekine et al. 2003) a také v bazálních gangliích – striatu, nucleus caudatus a putamen (McCann et al. 1998, Volkow et al. 2001a, McCann et al. 2008).

Dále bylo zjištěno, že užívání MA způsobuje snížení denzity serotoninových transportérů (5-HTT) ve středním mozku, nucleus caudatus, putamen, hypothalamu, thalamu nebo orbitofrontální a temporální kůře (Sekine et al. 2006). Po 6-12 měsících abstinence se ale hodnoty částečně upravily, což dokazuje, že abstinence působí reparabilně na zdánlivě nevratná poškození CNS (Volkow et al. 2001a). Při vyšetření PET bylo zjištěno, že užívání MA vede k aktivaci mikroglií ve středním mozku, striatu, thalamu orbitofrontální a insulární kůře (Sekine et al. 2008) a také byl u jedinců závislých na psychostimulanciích popsán abnormální metabolismus glukózy v kortikálních a subkortikálních oblastech (Volkow et al. 2001b). Vyšetření MRI u jedinců závislých na MA odhalilo morfologické změny, a to konkrétně úbytek šedé hmoty v cingulu a limbickém systému, signifikantní zmenšení hippocampu a hypertrofii bílé hmoty (Thompson et al. 2004). Také u těchto jedinců bylo prokázáno snížení hladin N-acetyl aspartátu (Sung et al. 2007), snížení hladin kreatinu (Sekine et al. 2002) a zvýšení koncentrace myoinositolu (Chang et al. 2002, Sung et al. 2007).

Vyšetření post mortem u uživatelů MA přineslo další důkazy o toxickém působení MA na metabolismus neuronů, konkrétně bylo prokázáno snížení hladiny DA, tyrosin hydroxylázy a DAT v putamen, a nucleus accumbens (Kitamura et al. 2007, Moszczynska et al. 2004a), snížení hladin 5-HTT v orbiotofrontální a okcipitální kůře (Kish et al. 2008), dále byly v nucleus caudatus a frontální kůře detekovány zvýšené hladiny produktů lipoperoxidace, 4-hydroxynonenalu a malondialdehydu (Fitzmaurice et al. 2006). Rovněž byly u uživatelů MA post mortem popsány změny v hladinách antioxidačních enzymů, konkrétně byla popsána zvýšená hladina CuZn superoxid dismutázy a močové kyseliny a snížená hladina glutathionu v nucleus caudatus (Moszczynska et al. 2004b).

MA způsobená neurotoxicita ve striatu koreluje s psychotickými příznaky (Sekine et al. 2002), snížení denzity DAT ve frontální kůře taktéž koreluje s psychotickými příznaky (Sekine et al. 2001) a dále koreluje s porušením paměti nebo zhoršenou psychomotorickou koordinací (Volkow et al. 2001c). MA způsobil poruchy motorického vývoje u makaků rhesus (*Maccaca mulatta*) a to mechanismem deplece dopaminu z nucleus caudatus a serotoninu z frontální kůry (Ando et al. 1985). U potkanů bylo zaznamenáno porušení motoriky i po vysazení drogy (Walsh and Wagner 1992).



Obr.7: Neurotoxická metamfetaminu (Yang et al. 2018)

Pulmonální a kardiovaskulární účinky

MA působí na uvolňování adrenalinu a NA z dřene nadledvin, zvyšuje tedy jejich koncentraci v krvi. Působení MA na α_1 a β receptory má za následek zvýšenou aktivaci sympatického nervového systému, a tímto způsobem i závažné nežádoucí účinky. MA zvyšuje krevní tlak, zvyšuje tepovou frekvenci, způsobí vasokonstrikci cév mozku a koronárních tepen a také bronchodilataci. V akutní fázi se tyto účinky projevují bolestí na hrudi, srdeční arytmii (tachykardií), palpitací a hypertenzí. MA způsobuje akutní koronární syndrom (Lan et al. 1998, Kaye et al. 2007). Při dlouhodobém užívání způsobuje MA hypertenzi, porušení koronárních tepen a kardiomyopatii (Karch et al. 1999, Kaye et al. 2007). Nežádoucí kardiovaskulární účinky mohou vést ke stavům ohrožujícím život. Smrt při předávkování je tedy způsobena

srdečním selháním nebo cévní mozkovou příhodou (Panenka et al. 2013, Yu et al. 2003, Kevil et al. 2019).

Orální účinky

Intoxikace MA je spojena se sníženou tvorbou slin a suchostí v ústech, což může vést ke zvýšené tvorbě zubního kazu, aktivaci mandibulárního svalstva a bruxizmu (Goodchild et al. 2007). Důsledkem těchto účinků může dojít k rozsáhlému poškození dutiny ústní, tzv. „Meth mouth“ neboli Pervitinová ústa. Objevují se četné kazy na zubní sklovině, bakteriální a kandidózní infekce úst, krvácení a dochází až k rozpadu dásní. Může dojít až ke změně mezičelistních vztahů a optické změně obličeje. Uživatelé MA mají obecně zhoršenou hygienu dutiny ústní, špatnou životosprávu, častěji pijí např. slazené nápoje, což také přispívá k výše zmíněnému (Shetty et al. 2010).

Pohlavní účinky

Vliv MA na sexuální chování nebyl dosud systematicky zkoumán v klinických studiích. Dosavadní výzkumy se opírají o osobní výpovědi rizikových uživatelů, u kterých se navíc často vyskytuje problematické sexuální chování. MA je spojen se zvyšováním sexuálního požitku (Semple et al. 2005), oddálením orgasmu, zvýšení sexuální aktivity a intenzity orgasmu. V jiných případech byla ale popsána po požití MA i erektilní dysfunkce (Shoptaw et al. 2007). Užívání MA je obecně spojeno se mnoha sociálně patologickými jevy, které zahrnují i rizikové sexuální chování (nechráněný styk, anální styk, styk s náhodnými osobami) a zvyšuje riziko pohlavně přenosných nemocí jak u homosexuálních, tak i u heterosexuálních jedinců (Semple et al. 2005, Semple et al. 2006, Stall et al. 2001). Nechráněný styk s sebou nese další riziko, a to nechtěné těhotenství (viz. Prenatální účinky MA). Některé studie uvádějí, že až 75 % těhotenství drogově závislých bylo nechtěné/neplánované (Black et al. 2012).

Dermatologické účinky

Užívání MA je rizikové pro rozvoj kožních infekcí způsobeným Methicilin rezistentním *Staphylococcus aureus* (Cohen et al. 2007). Kožní onemocnění jsou způsobena formikací, zvláštním typem taktilní halucinace. Závislí mají pocit, že jim na kůži nebo pod ní vyskytují brouci a mají tendenci si tato místa škrábat. Sebepoškozování a opakované škrábání kůže vede k rozvoji dalších kožních infekcí v ranách (Chen et al. 2003). Roli u kožních onemocnění hraje i špatná hygiena, vasokonstrikce kožních cév a tím způsobená bledost kůže nebo dehydratace (Liu et al. 2010).

d. Prenatální účinky metamfetaminu

Závažným problémem je zneužívání drog těhotnými ženami. Mnoho závislých žen přechází z jiných tvrdých drog během těhotenství právě na MA z důvodu jeho anorektických a také stimulačních účinků (Marwick 2000, Williams et al. 2003). MA je silně lipofilní látka, proto dobře prostupuje skrz buněčné membrány. V cirkulaci plodu dosahuje přibližně 50 % koncentrace, která je v plazmě matky. Díky pomalejšímu odbourávání v játrech plodu se může jeho koncentrace v cirkulaci zvyšovat, může přesáhnout i koncentraci v těle matky (Dattel 1990). Della Grotta *et al.* (2010) uvádí, že 84,3 % těhotných, drogově závislých žen užívá MA během prvního trimestru, 56,0 % v druhém trimestru a 42,4 % těchto žen pokračuje s užíváním MA také během třetího trimestru.

Navzdory zvyšující se prevalenci užívání MA mezi drogově závislými ženami v reprodukčním věku, dat z výzkumů v této oblasti máme stále málo (Metz et al. 2019, Perez et al. 2022).

Většina předchozích studií se zabývala souhrnným účinkem amfetaminů na těhotenství a dítě (Eriksson et al. 1981, Dixon and Oro 1987, Plessinger 1988, Phupong and Dajron 2007). Nedávné studie zaměřené pouze na účinky MA prokázaly, že těhotenství žen užívajících MA

je kratší, novorozenci mají nižší porodní váhu, kratší délku těla a obvod hlavičky (Smith et al. 2009, Kalaitzopoulos et al. 2019). MA dále ovlivňuje růst mozku a způsobuje nižší objem některých částí, konkrétně nucleus caudatus a thalamus (Warton et al. 2018a).

Roli ve vlivu MA na průběh těhotenství hraje i to, že drogově závislé matky hůř dodržují doporučení lékařů, nedochází na pravidelné kontroly a obecně se jim dostává horší zdravotní péče (Wright et al. 2015). Nebylo však zjištěno, že by užívání MA mělo přímý vliv na některé komplikace v těhotenství, jako jsou preeklampsie, poporodní krvácení, abrupce placenty nebo těhotenská cukrovka. Byly však popsány případy kolapsu matky po porodu z důvodu systémové vasokonstrikce (Kalaitzopoulos et al. 2019). Závislé matky častěji trpí duševním onemocněním, až 31 % závislých matek trpí nějakou psychiatrickou komorbiditou spojenou s užíváním MA (viz Neurotoxická) a zároveň se jim z mnoha důvodů nedostává adekvátní psychiatrické zdravotní péče. Tento fakt zhoršuje navázání vztahu matka-dítě, což negativně ovlivňuje vývoj dítěte (Shah et al. 2012, Perez et al. 2022).

Amfetaminy přecházejí do mateřského mléka. Jejich koncentrace je 3x-7x vyšší než v plazmě matky (závisí na individuální farmakokinetice jedince, dávce drogy atp.). Byly popsány případy intoxikace kojence po požití MA matkou, aniž by bylo prokázáno, že matka podala MA dítěti orálně (Ariagno et al. 1995).

Teratogenní účinky MA na člověka ale stále nebyly definitivně potvrzeny. Byly popsány abnormality CNS (Maya-Enero et al. 2018). Dále byl popsán vliv MA na vznik kongenitální katarakty (Clarke et al. 2009) nebo defekty dutiny břišní (Elliott et al. 2009). Existují také důkazy o závažných neonatálních komplikacích způsobených toxicitou MA, konkrétně encefalopatie a jaterní selhání doprovázené koagulopatií a trombocytopenií (Maranella et al. 2019), nebo cholestáza (Dahshan 2009). Vrozené vady se však vyskytují jen ve 2-4 % případů a prozatím nejsou dostatečná data k tomu, abychom určili, jestli se tyto defekty vyskytují častěji než během fyziologického těhotenství (Golub et al. 2005).

Neurotoxické účinky a vliv na chování jedince se jeví jako nejzávažnější důsledek prenatální expozice MA. Data však stále nejsou dostatečná k vyvození jasných závěrů (Perez et al. 2022). Jedna z prvních studií byla provedena ve Švédsku na jedincích prenatálně vystavených amfetaminu (ne specificky MA). Bylo zjištěno, že děti prenatálně vystavené působení amfetaminů měly v 8 letech věku problémy s agresí v porovnání s kontrolní skupinou (Billing et al. 1994). Podle jiné studie měly děti ve věku 14 let horší výsledky ve škole, konkrétně v matematice, jazycích a tělocviku (Cernerud et al. 1996). Další studie ukázaly spojitost s expozicí MA a nižším IQ a potížemi s učením nebo horšími verbálními dovednostmi (Kwiatkowski et al. 2018, Brinker et al. 2019). Také bylo zjištěno, že prenatální expozice MA způsobuje u dětí ve věku 3 až 5 let zvýšenou úzkost, deprese a emoční reaktivitu (LaGasse et al. 2012). Jedna ze studií také popsala poruchu paměti u dětí ve věku 6-7 let prenatálně vystavených MA (Roos et al. 2015).

Prenatální MA ovlivňuje i motorický vývoj jedince a sice způsobuje jeho opoždění, zejména u chlapců (Smith et al. 2015). Při několika studiích bylo za užití zobrazovacích metod zjištěno, že u dětí, které byly vystaveny MA prenatálně, byl poškozen metabolismus mozku a objevily se poruchy exekutivních funkcí (Abar et al. 2014). Dále bylo, při užití MRI, zjištěno, že fungování některých nervových spojení ve striatu bylo u jedinců prenatálně vystavených MA nebo alkoholu, poškozeno (Roussotte et al. 2012), což způsobilo motorický deficit. Jiné studie odhalily snížený objem určitých částí mozku (kortikální a striatální) u dětí prenatálně vystavených působení MA. Také měli menší putamen, globus pallidus a hippokampus, přičemž tyto změny přetrvaly až do školního věku. Byly u nich následně zjištěny i neurokognitivní deficity – konkrétně poruchy paměti a pozornosti (Chang et al. 2004, Chang et al. 2007). Za použití PET bylo dále zjištěno, že děti vystavená prenatální aplikaci MA měly sníženou denzitu

DAT a D₂ receptorů ve striatu a také sníženou denzitu serotoninergních transportérů a VMAT2 taktéž ve striatu (Chang et al. 2007). Jinými zobrazovacími metodami byly detekovány změny mikrostruktury bílé hmoty zejména v regionech striata, středního mozku a limbickými strukturami spojenými s orbitofrontální kůrou. Tato zjištění naznačují mechanismus, kterým je způsoben deficit pozornosti a deficit kontrolního chování u jedinců prenatálně vystavených MA (Chang et al. 2016, Warton et al. 2018b).

Abstinenční syndrom u novorozenců není častý, vyskytuje se asi ve 2 % případů a většinou spontánně odezní během týdne. Projevuje se jako porucha příjmu potravy, spavost a tremor. Není tak závažný jako v případě alkoholu nebo opiátů (Thaithumyanon et al. 2005).

e. Experimentální studie prenatálních účinků metamfetaminu

Závislé matky často užívají několik drog v kombinaci – MA, alkohol, cigarety nebo více stimulantů najednou (Ludlow et al. 2004), proto není přesně známo, která z látek má za následek výše popsané symptomy ani jaký je přesný mechanismus účinku prenatálního působení jednotlivých látek. Studie se kromě nedostatku dat potýkají také s „non-compliance“ (nedodržování předpisů) závislých jedinců. Z těchto důvodů je nutné použít experimentální model – laboratorní zvíře, kde může být prenatální účinek jednotlivých látek odlišen a velmi podrobně popsán (Šlamberová et al. 2008).

MA je pro zvířata teratogenní látka, teratogenita u zvířat při prenatální expozici byla popsána na myších a králících (Kasirsky et al. 1971). MA podávaný v dávkách 5 mg/kg odpovídá koncentracím u plodu drogově závislých matek (Acuff-Smith et al. 1996, Cho et al. 1991, Rambousek et al. 2014). MA podávaný opakovaně ve vyšších dávkách (20, 50 mg/kg) vedl k úmrtí březích samic nebo samovolnému potratu (Acuff-Smith et al. 1996). Samice, kterým byl v době březosti podáván MA, měly kratší dobu březosti, jejich přírůstek na váze

během březosti byl nižší než u kontrolních skupin a ve vrhu bylo méně mláďat než u kontrolních skupin (Šlamberová 2012). Mnoho studií, včetně našich, dokazují škodlivý vliv amfetaminů na mateřské chování. Opakované injekční podávání drogy během laktace mělo negativní dopad na kontakt matky a mláděte. Již studie Fraňkové (1977) ukázala, že matky, které dostávaly amfetaminy po dobu prvních 10 dní laktace, věnovaly méně času mateřským aktivitám (retrieval test, starost o mláďata, stavění hnízda atd.). Rovněž studie naší laboratoře ukazují, že aplikace MA v době březosti, během laktace nebo během laktace i březosti negativně ovlivnila mateřské chování. Matky trávily méně času péčí o potomstvo a více času věnovaly sobě (např. starostí o potravu a pití), relaxovaly v kleci mimo hnízdo atd. (Šlamberová et al. 2005, Malinová-Ševčíková et al. 2014). MA tedy ovlivňuje vývoj jedince negativně nejen přímo, ale i skrze zhoršenou péči závislé matky o potomstvo během laktace.

Efekt prenatální expozice MA na nízkou porodní váhu mláďat je ovlivněn více skutečnostmi. Mláďata matek vystavených MA mají nižší porodní hmotnost v porovnání s kontrolní skupinou, přestože obě skupiny měly stejný přístup k potravě – *ad libitum*. Snížení chuti k jídlu nebo snížený příjem potravy matek obecně tedy nevede k nižší porodní hmotnosti jejich mláďat. Jedním z mechanismů může být rovněž vasokonstriční účinek MA utero-placentální zásobení plodu (Acuff-Smith et al. 1996).

MA přímo způsobuje poruchy pupečníku a tím negativně ovlivňuje placentární zásobení plodu (Vavřínková et al. 2001), což vede k hypoxii a malnutrici plodu. Prenatální ischemie – hypoxie nebo nedostatečné zásobení plodu kyslíkem je jedním z hlavních příčin nízké porodní hmotnosti (Henriksen and Clausen 2002).

MA přestupuje kromě placentární bariéry také hematoencefalickou a tím způsobí poruchy vývoje plodu (Šlamberová et al. 2006). Dále ovlivňuje mezolimbický dopaminergní systém, což vede k poruše senzomotorického vývoje plodu (Bubeníková-Valešová et al. 2009). V našich studiích se podařilo prokázat, že MA negativně ovlivňuje vývoj mláďat. Mláďata

dosahovala horších výsledků v testech negativní geotaxe, a vzpřimovacího reflexu. U těchto jedinců jsme také pozorovali snížení spontánní motorické aktivity a explorační (Hrubá et al. 2008, Malinová-Ševčíková et al. 2014, Šlamberová et al. 2005). V našem dalším experimentu jsme prokázali, že prenatální aplikace MA nemá přímý vliv na chování potkanů během explorační nového prostředí, avšak zvyšuje citlivost na účinky drogy v dospělosti (Schutová et al. 2009).

Naše dosavadní studie také potvrzují změny v procesu učení a paměti, v nocicepční citlivosti a v pohotovosti k epileptickým záchvatům u dospělých samců a samic prenatálně ovlivněných MA (Matějovská et al. 2014, Šlamberová et al. 2005, Šlamberová et al. 2006, Yamamotová et al. 2004). Dále jsme prokázali, že prenatální expozice MA může způsobit změnu v expresi některých receptorů. Konkrétně jsme prokázali, že vede ke změnám v expresi podjednotek NMDA receptorů v hipokampu, konkrétně k NR1, což má vliv na prostorovou paměť u dospělých jedinců (Šlamberová et al. 2014). MA také způsobuje upregulaci exprese genů dopaminových receptorů ve striatu, genů glukokortikoidních receptorů v prefrontální kůře a genů karboxyesterázy v hipokampu (Zoubková et al. 2019). Další z našich předchozích studií prokázala, že prenatální expozice MA v dávce 5 mg/kg po celou dobu březosti vede k poruchám paměti a dalších kognitivních funkcí u dospělých jedinců (Fialová et al. 2015).

Výše už bylo zmíněno, že MA může vyvolávat změny v pupečníku a placentě a následně tedy prenatální hypoxii a snížení výživy plodu. Prenatální expozice MA také vede k nízké porodní hmotnosti (Šlamberová 2012), což je jeden z rizikových faktorů vzniku ADHD (Asherson 2012).

5. Hypotéza a cíl práce

Na základně zjištění předchozích studií naší laboratoře jsme definovali hypotézu, že prenatální expozice MA může vyvolat podobné symptomy jako ADHD a může být tudíž použita jako model.

Přesto, že již bylo publikováno mnoho studií dokazujících negativní účinky MA na potomky drogově závislých matek, dosud nebylo zjištěno, zda tyto expozice MA vyvolá přímo symptomy podobné ADHD. Jelikož jak zmíněno výše, může MA vyvolávat změny v pupečníku a placentě a následně tedy prenatální hypoxii a snížení výživy plodu, předpokládáme, že to by mohl být mechanismus účinku prenatální expozice MA vedoucí k podobným symptomům jako u ADHD. Proto jsme se rozhodli porovnat vliv prenatální expozice MA s prenatální hypoxií.

Naším cílem bylo:

1. Zjistit, zda prenatální expozice MA vyvolá změny podobné ADHD za použití behaviorálních testů.
2. Porovnat výsledky z již použitým modelem ADHD - prenatální hypoxií.
3. Analýza výsledků a dat. Vyvození závěrů a celkového významu pro společnost.

Pro otestování našich hypotéz jsme použili následující 4 behaviorální testy:

- „OLT a NORT“, sledující vliv na krátkodobou paměť a pozornost v 35.- 40. PD
- „Voluntary running test“, sledující motorickou aktivitu jedince v 21., 35, a 90 PD
- „Laboras“ – modifikovaný „open field“, sledující vliv na chování jedince v neznámém prostředí v 90 PD
- „Morrisovo vodní bludiště“, sledující vliv na proces učení a paměti v 90 PD

6. Materiál a Metodika

6.1. Chov zvířat

K pokusům byli používáni laboratorní potkani kmene Wistar. Dospělé samice (250-300 g) a samci (350-400 g) laboratorního potkana pocházeli z Velaz (Charles River Laboratories International, Inc, Praha, Česká republika). Zvířata byla ustájena v plastových klecích o rozměrech 45 cm x 30 cm x 20 cm separátně podle pohlaví, samci v počtu 4 na klec, samice v počtu 5 na klec. Klece se zvířaty byly umístěny v klimatizované místnosti s kontrolovanou konstantní teplotou (22-24 °C) a standardním světelným cyklem 12 h světlo:12 h tma s počátkem světelné fáze v 6:00 h ráno. Zvířata byla po doručení do laboratoře ponechána v klidu po dobu 2 týdnů s přístupem *ad libitum* ke krmení a vodě.

6.2. Fertilizace

Po uplynutí aklimatizační periody byly samice zváženy a byl jim proveden vaginální výplach za účelem zjištění fáze estrálního cyklu. Na začátku estrální fáze byly samice přes noc připuštěny k samcům. Následující den byl samicím opět proveden vaginální stěr za účelem zjištění přítomnosti spermatu. Pak byly samice navraceny zpět do svých původních klecí.

6.3. Prenatální a postnatální péče

Březi samice kmene Wistar byly tedy rozděleny do čtyř skupin:

Skupina	Prenatální aplikace	Dávka/koncentrace
1.	MA	5 mg/kg
2.	SA	1 ml/kg
3.	Hypoxie	10 % O ₂
4.	Kontrola	21 % O ₂

1. Skupina byla vystavena prenatální aplikaci metamfetaminu (MA) v dávce 5 mg/kg po celou dobu březosti.
2. Skupina byla vystavena prenatální aplikaci fyziologického roztoku (SA) po stejnou dobu a ve stejném objemu jako 1. skupina.
3. Skupina byla vystavena vlivu prenatální hypoxie (H) vždy v 30s cyklech po celou hodinu denně od 4. do 21. dne březosti.
4. Skupina byla kontrolní (C), bez jakýchkoli zásahů v průběhu březosti.

Fyziologický roztok (0.9 % NaCl) a D-Metamfetamin HCl byly zakoupeny u společnosti Sigma-Aldrich (ČR).

Expozice hypoxii byla prováděna v normobarickém prostředí. Samice byly denně na 1 hodinu umístěny do klece připojené na přístroj s možností regulace složení vzduchu. Po 1 hodinu byly vystaveny působení hypoxie (10 % O₂) vždy v 30s cyklech. Hypoxická fáze byla vždy po 30s následována normoxickou fází. Složení vzduchu bylo regulováno vpouštěním a vypouštěním dusíku do klece. Klece byly vyrobeny z plexiskla (28 cm délka, 10 cm v průměru, o objemu 2,4 litrů). Vypouštěcí zařízení proudu vzduchu bylo upraveno tak, aby nerušilo zvířata. Použili jsme model modifikovaný hypoxie dle Wei et al. 2016.

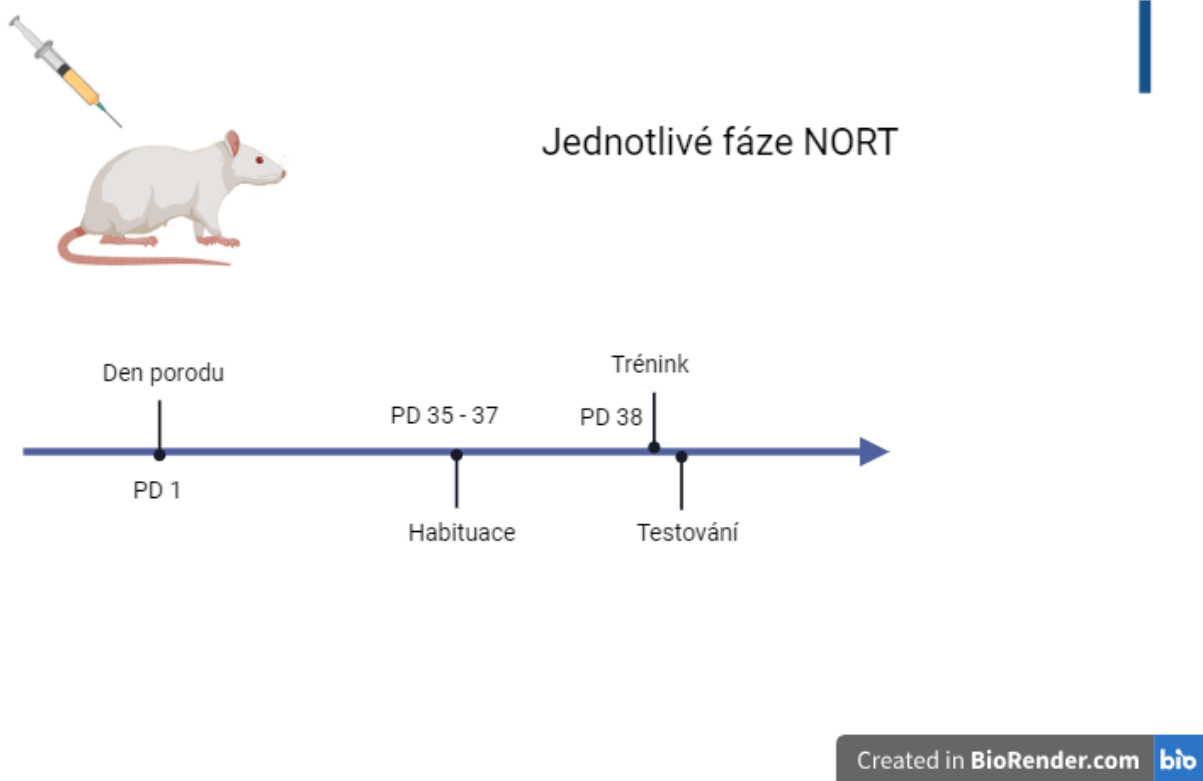
21. den březosti byly samice separovány do „mateřských“ klecí. Den porodu byl označen jako PD 0.

V PD 1 byla mláďata označena intradermální aplikací tetovacího inkoustu: Experimentální skupiny (MA, resp. H) na levé zadní tlapce, kontrolní skupiny (SA, resp. C) na pravé zadní tlapce. Počet mláďat v hníždě byl upraven na 12. Matky byly s mláďaty ponechány ve standardních laboratorních podmínkách. V PD 21 byla mláďata od matek odstavena a umístěna do klecí po 4 jedincích až do doby behaviorálních testů.

6.4. Behaviorální testy

a. Novel object recognition test (NORT)

NORT byl proveden v PD (35-38) podle schématu (Fialová et al. 2015). Jedná se o test na trénování krátkodobé paměti. NORT se skládá ze tří částí: habituace, trénink a testování. Test probíhal v tmavé místnosti za použití infračerveného světla při natáčení.



Obr.8: Jednotlivé fáze NORT

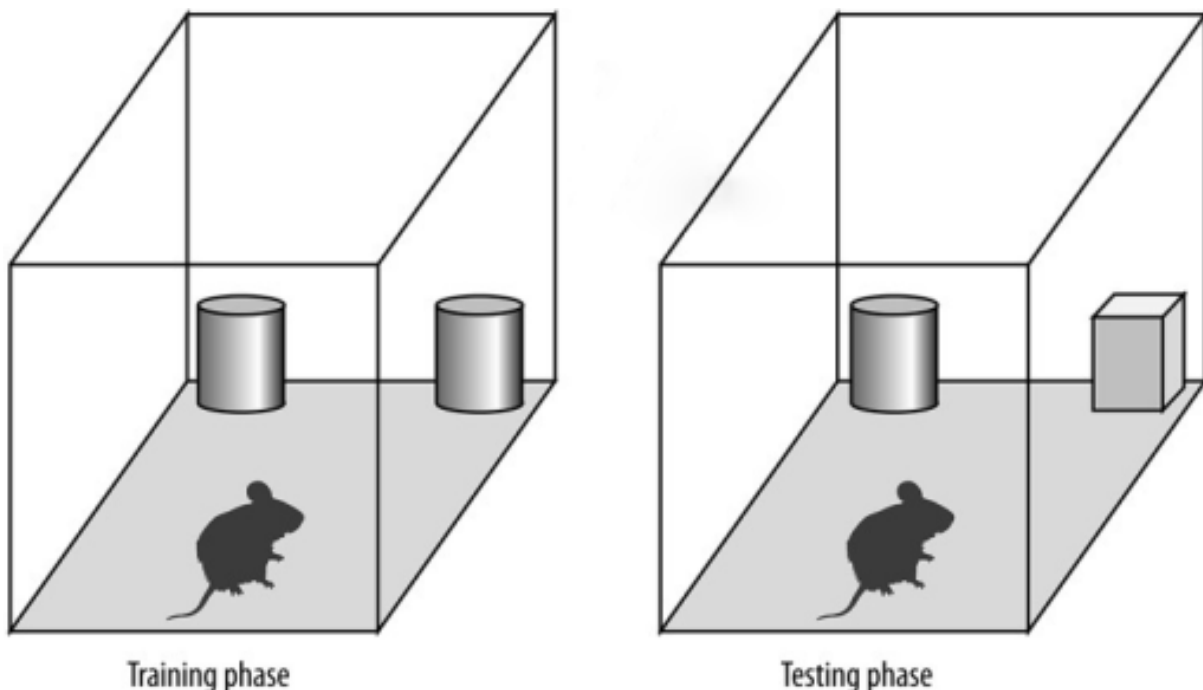
Habituaace: zvířata byla habituována v prázdné plastové čtvercové aréně (45×45×50 cm) po dobu 10 minut a to tři po sobě následující dny.

Trénink: čtvrtý den testování byla zvířata trénována. Do arény jsme vložili dva identické objekty, zvířata byla vložena do arény společně s objekty a ponechána 5 minut pro exploraci objektů. Po uplynutí této doby, byla navrácena zpět do klecí. Testovací aréna a objekty byly

vyčištěny od nečistot a zápachu za použití 60 % etanolu. Vždy po skončení pokusu byla aréna vyčištěna Ajatinem.

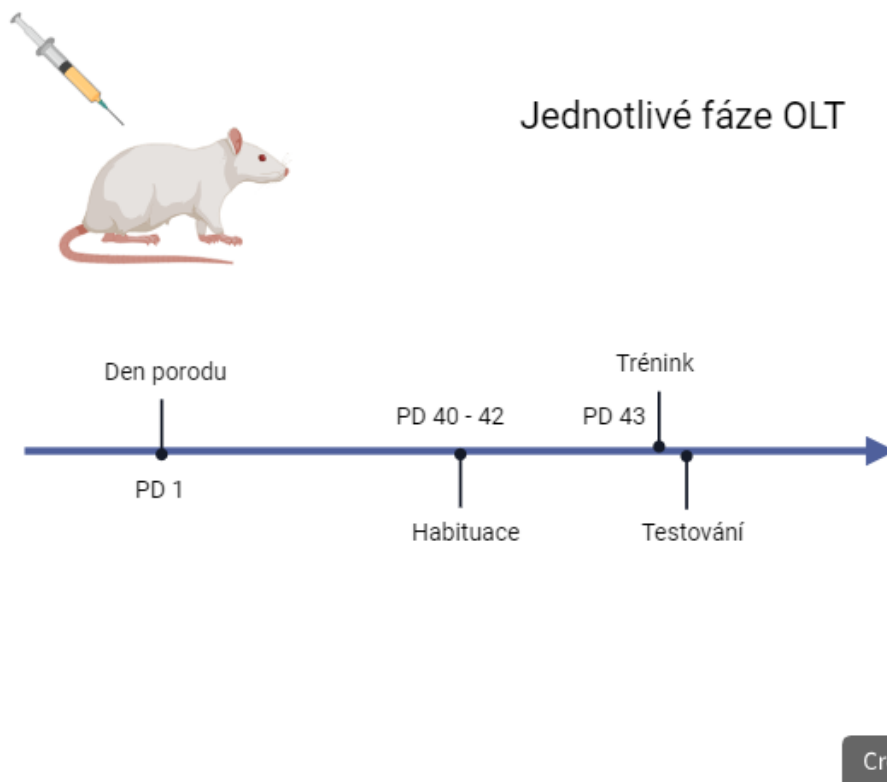
Testování: Po skončení fáze trénování, byla zvířata opět umístěna do testovací arény. Jeden z objektů byl vyměněn za jiný („nový“) o podobné šířce (byly použity např. plechovka a sklenice od jogurtu naplněná vodou, objekty se lišily tvarem a výškou). Objekty byly umístěny na stejná místa jako při fázi testování. Cílem testu bylo změřit, jak dlouho budou zvířata objevovat nový objekt v porovnání s tím už známým, „starým“. Čas explorace obou objektů byl automaticky měřen pomocí systému Ethovision XT7 (Noldus, Nizozemí). Z naměřených hodnot jsme spočítali tzv. Investigační ratio (IR), které jsme vypočetli jako podíl času stráveného objevováním nového objektu k celkovému času explorace obou objektů.

($T_{total} = T_{new} + T_{old}$) ($IR = T_{new}/T_{total}$). Dalšími sledovanými parametry byla taktéž frekvence navštěvování nového a starého objektu a celková délka strávená u objektů. Taktéž jsme sledovali rychlost pohybu a délku trajektorie, kterou zvířata za pobyt v aréně urazila.



Obr.9: Novel Object Recognition Test (Histogene.co)

b. Object location test (OLT)



Obr.10: Jednotlivé fáze OLT

Další skupina zvířat byla použita k OLT. Tento test slouží k testování krátkodobé prostorové paměti (Ennaceur et al. 1997) a taktéž jsme použili již dříve použité schéma (Fialová et al. 2015). OLT byl proveden v PD 40-43. OLT je prováděn podle podobného schématu, jako NORT. Skládá se také ze tří částí: habituace, trénování, které jsou identické, jako u NORT. Třetí část, testování, se liší. Předmět se v této fázi testu přesune na jinou pozici v testovací aréně. Výpočet IR a další sledované parametry jsou identické jako u NORT.

c. Voluntary running

Tento test slouží k měření pohybové aktivity u zvířat (Persson et. al 2004). Samci byli testováni v klecích (45×36×20 cm, typ 765-423-1505 INDIANA 47903) s vloženým běhátkem. Kolo bylo zvířatům volně k dispozici a rotace kola poháněná zvířetem byla automaticky zaznamenávána za použití softwaru monitorovacího zařízení. Všechna zvířata byla vážena před

začátkem a po konci experimentu. Protokol pokusu byl navržen tak, že jsme testovali pohybovou aktivitu v třech vývojových obdobích. Zvířata byla do klece vložena třikrát, vždy na dobu pěti dnů, a to v PD 21 (tedy PD 21-PD 25), PD 30 (tedy PD 30-PD 34), a PD 90 (tedy PD 90-PD 94).

V PD 21 byla zvířata vkládána do klece ve skupině osmi sourozenců. V kleci měli volný přístup k jídlu a vodě. Druhá část experimentu byla provedena se stejnou skupinou zvířat v PD 30. V PD 90 byla zvířata už do klecí vkládána samostatně, po jednom z každé skupiny. V období mezi pokusy byla zvířata ponechána v jejich domácích klecích, v období PD 25 - PD 30 ve skupinách po osmi. Od PD 40 do dospělosti byli potkani chováni po 2-3 jedincích.

d. Laboras

Laboras (Metris B. V., Nizozemí) je zařízení, které slouží k dlouhodobému monitorování chování malých hlodavců (Schutová et al. 2013). Zvíře je umístěno do klece z plexiskla (45×30×25 cm) s podestýlkou, kde má přístup k pití a potravě. Zařízení automaticky vyhodnocuje pohybovou aktivitu potkana. Podkladová plošina je propojena s počítačem a na základě vibrací registrovaných softwarem. Je možno stanovit několik druhů aktivit, délku jejich trvání a rychlost pohybu zvířete. Test je prováděn v tmavém prostředí. Na toto jsou zvířata 14 dní předem habituována (tzv. obrácený režim).

Zvíře jsme vložili do zařízení na dobu 1 hodiny a aktivita byla zaznamenávána v šesti 10- minutových intervalech.



Obr.11: Zařízení Laboras (Metris.nl)

e. Morrisovo vodní bludiště

Morrisovo vodní bludiště slouží k testování kognitivních funkcí (učení a paměť) (Morris 1984). Jedná se o kruhový bazén o průměru 2 m, naplněný vodou (15 cm pod horní okraj bazénu) se stálou teplotou (18-20 °C). Na jeho okraji jsou označeny startovní pozice sever (S), jih (J), východ (V) a západ (Z). Tyto pozice rozdělují bazén na 4 kvadranty. V severovýchodním (SV) kvadrantu je umístěn ostrůvek vyrobený z průhledného plastu, který je skryt 1-2 cm pod hladinou, aby jej zvíře nevidělo. V místnosti, kde je bazén umístěn, jsou na zdech umístěny stabilní orientační body (obrázky), podle kterých se zvíře při hledání ostrůvku orientuje. Plavání potkanů je zaznamenáváno kamerou, která je zavěšena nad bazénem a hodnoceno automaticky systémem Ethovision 10 (Noldus, Holandsko).

Doba testování je 12 dní, prvních 6 probíhá učení, 8. den jsou zvířata umístěna do bazénu bez ostrůvku (tzv. Probe test) a 12. den pak probíhá test paměti.

TEST	UČENÍ							PROBE TEST				PAMĚŤ
DEN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Tab.3: Jednotlivé fáze testu Morrisova vodního bludiště.

Test učení:

V testu učení byla zvířata vkládána do bazénu po dobu 6 po sobě následujících dní, vždy 8 krát denně za 4 různých pozic v pořadí cyklu S, J, V, Z. Každý cyklus byl vždy zopakován 2 krát (proto 8 startů plavání). Zvíře se snažilo nalézt ostrůvek, maximální limit je 60 s. V případě, že během stanoveného limitu ostrůvek nenašlo, bylo na něj navigováno manuálně. Mezi střídáním jednotlivých startovních pozic bylo zvíře ponecháno na ostrůvku po dobu 30 s, aby se zorientovalo a vytvořilo si mapu prostředí a také aby si odpočinulo.

Ve fázi učení testu Morrisova vodního bludiště jsme sledovali následující parametry: délka celkové uplavané trajektorie [cm], „search error“ neboli chybu hledání – součet přímých vzdáleností od ostrůvku naměřených opakovaně v průběhu hledání [cm], latence – doba, za kterou zvíře ostrůvek našlo [s] a rychlost plavání [cm/s]. Dále jsme hodnotili, jaké strategie zvíře při hledání ostrůvku použilo. Tyto lze rozdělit na tigmataxi a skenování (Macúchová et al. 2017). Tigmataxe je definována jako plavání po okraji bazénu (max. ve vzdálenosti 30 cm od okraje), naopak skenování je definováno jako plavání okolo ostrůvku (průměr trajektorie max. 1 m) (Obr.10). U obou strategií byl měřen celkový čas, který zvíře strategii věnovalo a ten byl vyjádřen v procentech (%).

Probe test

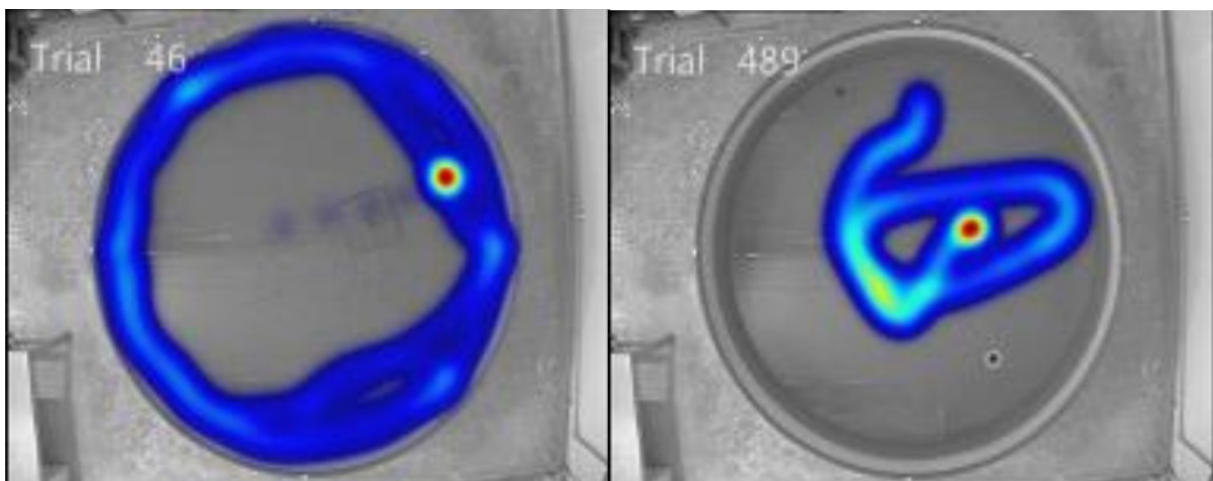
8. den testování byl proveden kontrolní test za účelem ověření, jestli si zvíře zapamatovalo polohu skrytého ostrůvku na základě vytvoření kognitivní mapy. Ostrůvek byl před začátkem testu odstraněn z bazénu. Zvíře bylo vloženo do bazénu z pozice S a jeho pohyb byl monitorován po dobu 60 s. Pokud si zvíře lokaci ostrůvku pamatovalo, trávilo nejvíce času v kvadrantu, kde byl ostrůvek umístěn a také do něj nejčastěji vstupovalo.

V „Probe“ testu byly měřeny následující parametry: délka celkové uplavané trajektorie [cm] a rychlost plavání [cm/s]. Dále bylo měřeno, kolik času zvířata trávila v kvadrantu, kde se nacházel ostrůvek, jak často do kvadrantu vstupovala a jak často křížila polohu ostrůvku (Laczó et al. 2017).

Test paměti

12. den probíhal test paměti. Tento test se zaměřuje na dlouhodobou paměť. Zvířata měla za úkol v co nejkratším limitu opět nalézt ostrůvek. Jeho pozice byla stejná, jako ve fázi učení. Každé zvíře opět absolvovalo 8 startů ze 4 různých pozic (S, J, V, Z) v dvou po sobě jdoucích cyklech. Maximální limit pro nalezení ostrůvku byl stanoven na 60 s.

Hodnotili jsme stejné parametry jako v testu učení.



Obr.12: Morrisovo vodní bludiště, strategie hledání ostrůvku: tigmotaxe (vlevo) a skenování (vpravo)

7. Statistická analýza dat

Při statistickém vyhodnocení dat jsme nejdříve určili, jestli bylo rozložení dat v jednotlivých skupinách normální (Gaussovské). Data byla analyzována pomocí parametrického testu pro 3 a více skupin. Použili jsme analýzu rozptylu (ANOVA) s následným Bonferroniho *post-hoc* testem. Za signifikantní jsme považovali rozdíly $p < 0,05$.

Data u ANOVA testu byla prezentována jako $[F(N-1, n-N) = xx,xx; p < 0,05]$. F je hodnota testovaného kritéria, N-1 je stupeň volnosti skupin, n-N je stupeň volnosti individuálního subjektu a p je hladina významnosti.

V testu NORT jsme použili jedno-faktorovou ANOVU (*Prenatální expozice*) a následným Bonferroniho *post-hoc* testem.

V testu OLT jsme použili jedno-faktorovou ANOVU (*Prenatální expozice*) a následným Bonferroniho *post-hoc* testem.

V testu „Voluntary running“ jsme použili jednofaktorovou ANOVU (*Prenatální expozice*) a následným Fischerovým *post-hoc* testem.

V testu Laboras jsme naměřená data vyhodnocovali v 6 10-minutových intervalech. Data jsme hodnotili jednofaktorovou ANOVOU (*Prenatální expozice*) s opakovaným měřením a následným Bonferroniho *post-hoc* testem.

V testu učení jsme použili jednofaktorovou ANOVU (*Prenatální expozice*) s víceúrovňovým opakovaným měřením (*Dny x Pokusy*) a následným Bonferroniho *post-hoc* testem. „Probe“ test jsme vyhodnocovali pomocí jednofaktorového ANOVA testu (*Prenatální expozice*) s následným Bonferroniho *post-hoc* testem. Při vyhodnocení testu paměti jsme použili jednofaktorový test ANOVA (*Prenatální expozice*) s opakovaným měřením (*Pokusy*) a následným Bonferroniho *post-hoc* testem.

8. Výsledky

8.1. Novel object recognition test (NORT)

Vliv prenatální expozice

Zaznamenali jsme statisticky signifikantní rozdíly mezi skupinami [$F(3, 35) = 9,286, p < 0,05$]. Jak vidíme v grafu 1., zvířata vystavená vlivu prenatální hypoxie urazila větší vzdálenost než zvířata vystavená vlivu SA ($p < 0,05$) a rovněž i MA ($p < 0,05$). Zvířata vystavená vlivu MA urazila menší vzdálenost než zvířata kontrolní skupina ($p < 0,05$).

Statisticky signifikantní výsledky jsme zaznamenali také u rychlosti, jakou se jedinci pohybovali [$F(3, 35) = 7,331, p < 0,05$]. Jedinci prenatálně vystaveni vlivu hypoxie se pohybovali rychleji, než jedinci vystaveni vlivu SA ($p < 0,05$) a MA ($p < 0,05$).

V parametru IR, tedy hlavním parametru hodnoceném při NORT testu nebyly žádné statisticky významné rozdíly u žádné skupiny zvířat.

Jak vidíme v grafu 2, výsledky u parametru frekvence navštěvování nového objektu byly statisticky významné. Jedinci prenatálně vystaveni hypoxii navštěvovali nový objekt častěji, než jedinci vystaveni vlivu prenatálního SA ($p < 0,05$).

8.2. Object location test (OLT)

Vliv prenatální expozice

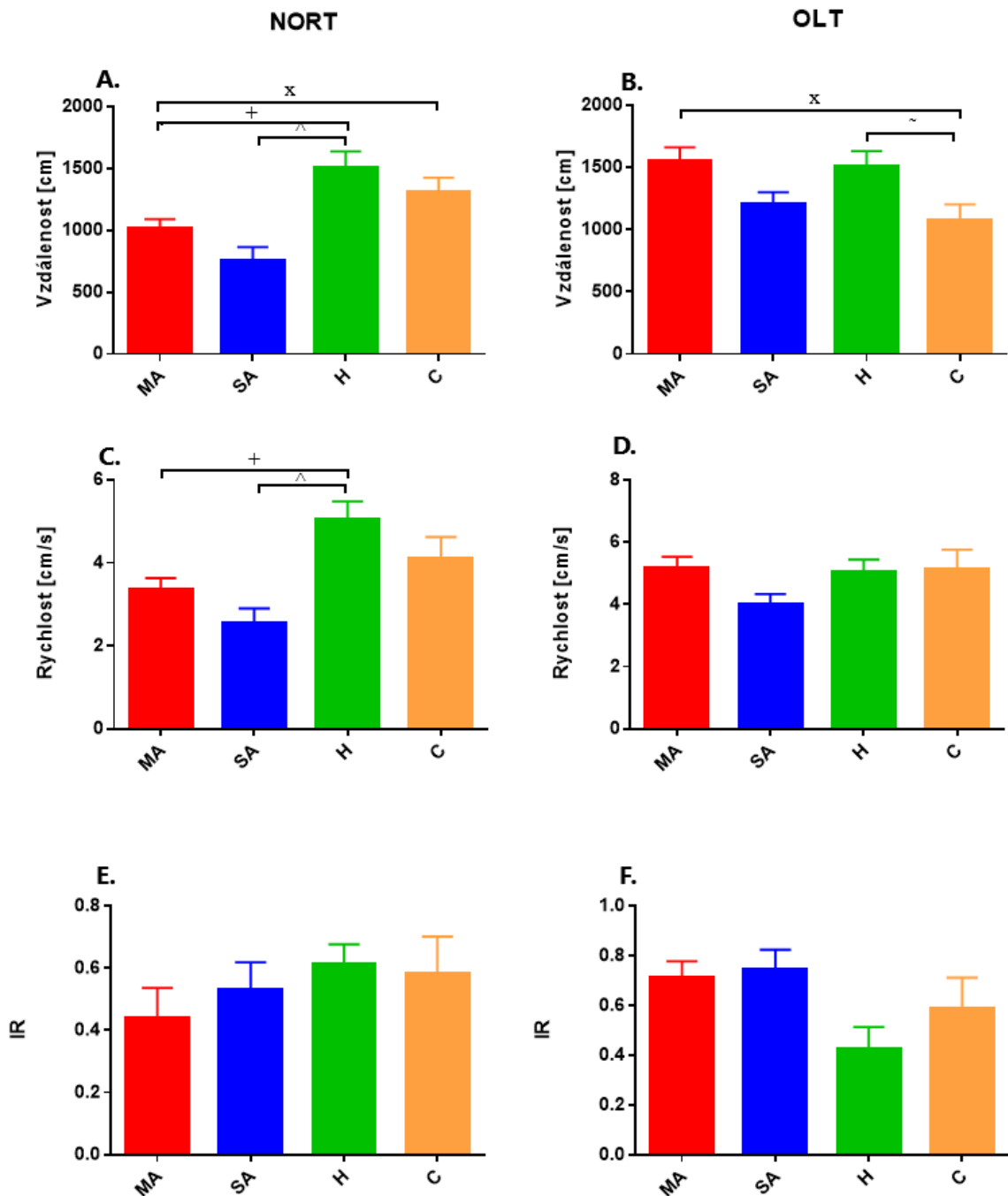
Jak vidíme v grafu 1, statisticky významné rozdíly mezi skupinami jsme zaznamenali pouze v parametru vzdálenosti, kterou jedinci urazili [$F(3, 32) = 4,638, p < 0,05$]. Jedinci

vystavení vlivu prenatální expozice MA urazili větší vzdálenost než kontrolní skupina ($p < 0,05$) a jedinci vystavení hypoxii urazili větší vzdálenost, než kontrolní skupina ($p < 0,05$).

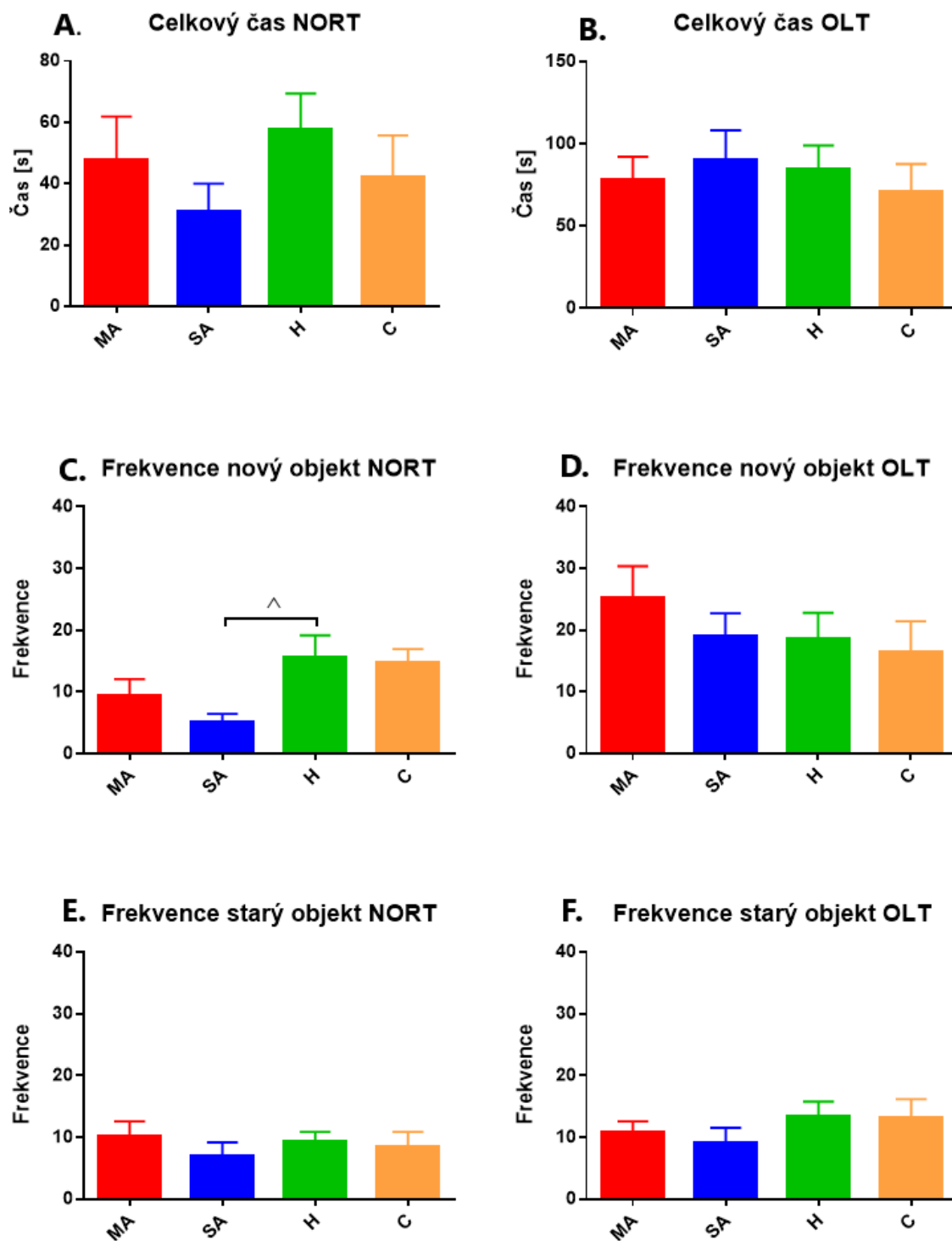
Rozdíly v rychlosti, kterou se jedinci pohybovali, nebyly statisticky významné u žádné sledované skupiny.

V parametru IR se hodnoty přiblížily významnosti pouze mezi skupinami SA a hypoxií ($p = 0,07$).

Jak vidíme v grafu 2, ostatní sledované parametry nebyly statisticky významné.



Graf 1. Vliv prenatální aplikace MA, SA, Hypoxie a Kontrolního prostředí na chování v NORT a OLT testu. MA=metamfetamin; SA=fyzilogický roztok; H=hypoxie; C=kontrola. Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=9-10) A. Vzdálenost NORT x p < 0,05 MA vs C, ^ p < 0,05 H vs. SA, + p < 0,05 MA vs H, B. Vzdálenost OLT x p < 0,05 MA vs C, ~ p < 0,05 H vs C, C. Rychlost NORT ^ p < 0,05 H vs. SA, + p < 0,05 MA vs H, D. Rychlost OLT, E. IR NORT, F. IR OLT



Graf 2. Vliv prenatální aplikace MA, SA, Hypoxie a Kontrolního prostředí na chování v NORT a OLT testu. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie; C=kontrola. Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=9-10); A. Celkový čas NORT, B. Celkový čas OLT, C. Frekvence nový objekt NORT \wedge p < 0,05 H vs. SA, D. Frekvence nový objekt OLT, E. Frekvence starý objekt NORT, F. Frekvence starý objekt OLT

8.3. Voluntary running

Vliv prenatální expozice

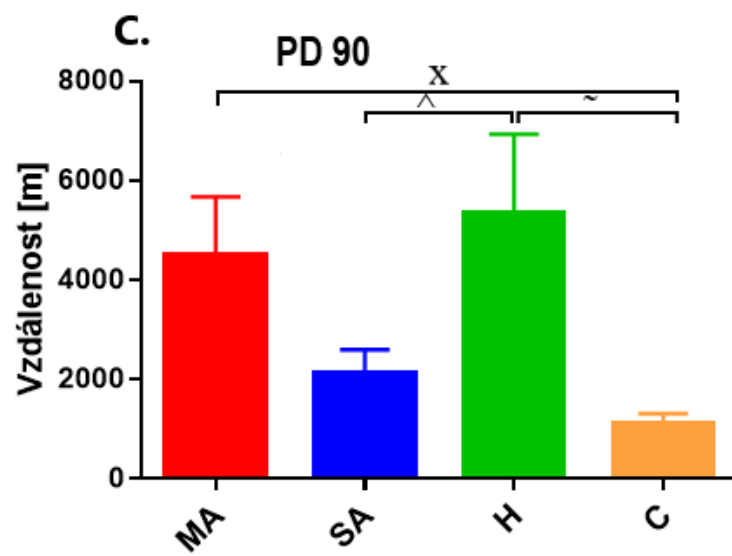
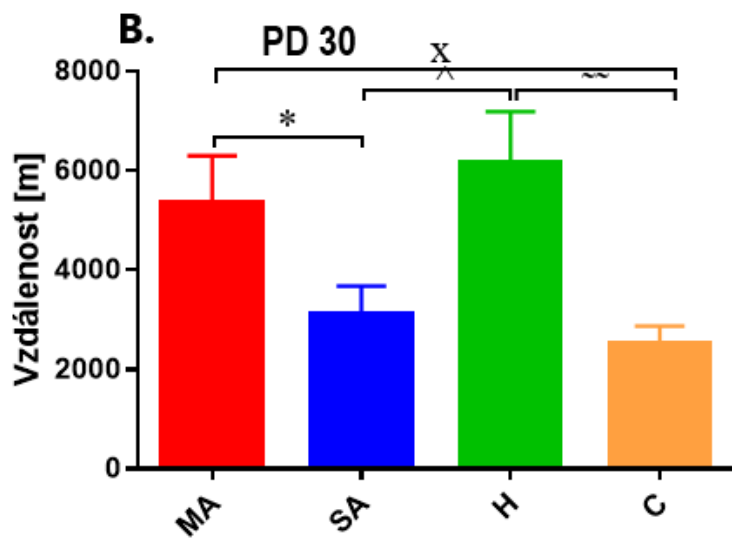
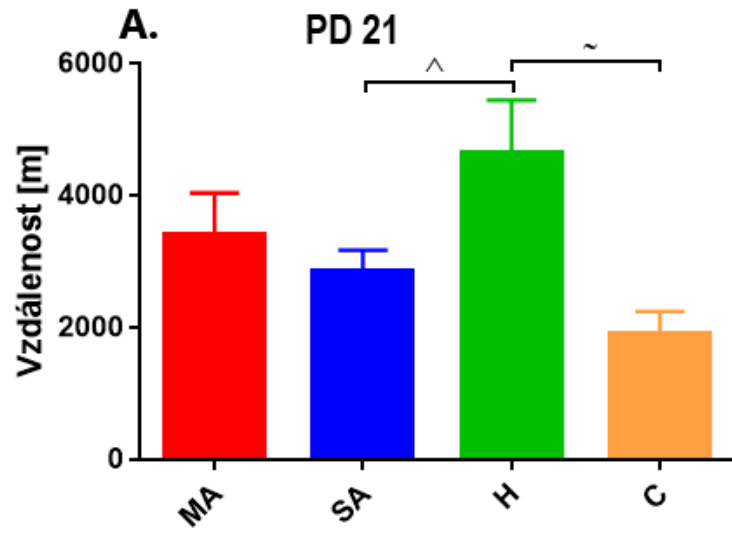
Jak vidíme v grafu 3, statisticky významné rozdíly mezi skupinami jsme zaznamenali ve všech sledovaných obdobích:

Ve 21. PD [$F(3, 34) = 4,024, p < 0,05$] jedinci prenatálně vystavení hypoxii urazili větší vzdálenost než jedinci vystavení vlivu SA ($p < 0,05$) a kontrolní skupina ($p < 0,05$).

Ve 30. PD [$F(3, 34) = 4,770, p < 0,001$] jedinci vystavení vlivu prenatálního MA urazili větší vzdálenost než jedinci prenatálně vystavení vlivu SA ($p < 0,05$) a kontrolní skupina ($p < 0,05$). Jedinci prenatálně vystavení hypoxii urazili větší vzdálenost než jedinci vystavení vlivu SA ($p < 0,05$) a kontrolní skupina ($p < 0,01$).

V 90. PD [$F(3, 34) = 3,813, p < 0,05$] jedinci vystavení vlivu prenatálního MA urazili větší vzdálenost než kontrolní skupina ($p < 0,05$). Jedinci prenatálně vystavení hypoxii urazili větší vzdálenost než jedinci vystavení vlivu SA ($p < 0,05$) a kontrolní skupina ($p < 0,05$).

Podobně jako v PD 30 jedinci měli jedinci skupiny MA tendenci uběhnout větší vzdálenost než SA skupina, ale tento výsledek nebyl významný ($p=0,09$).



Graf 3. Vliv prenatalní aplikace MA, SA, Hypoxie a Kontrolního prostředí na aktivitu jedinců ve Voluntary running testu. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie; C=kontrola. (n=9-10), A. 21 PD: Vzdálenost: ^ p <0,05 SA vs H; ~ p < 0,05 H vs C; B. 30 PD: Vzdálenost * p <0,05 MA vs SA; x p <0,05 MA vs C, ^ p <0,05 SA vs H, ~ ~ p <0,01 H vs C; C. 90 PD * p <0,05 MA vs SA; x p <0,05 MA vs C; ^^ p <0,05 SA vs H; ~ ~ p <0,01 H vs C

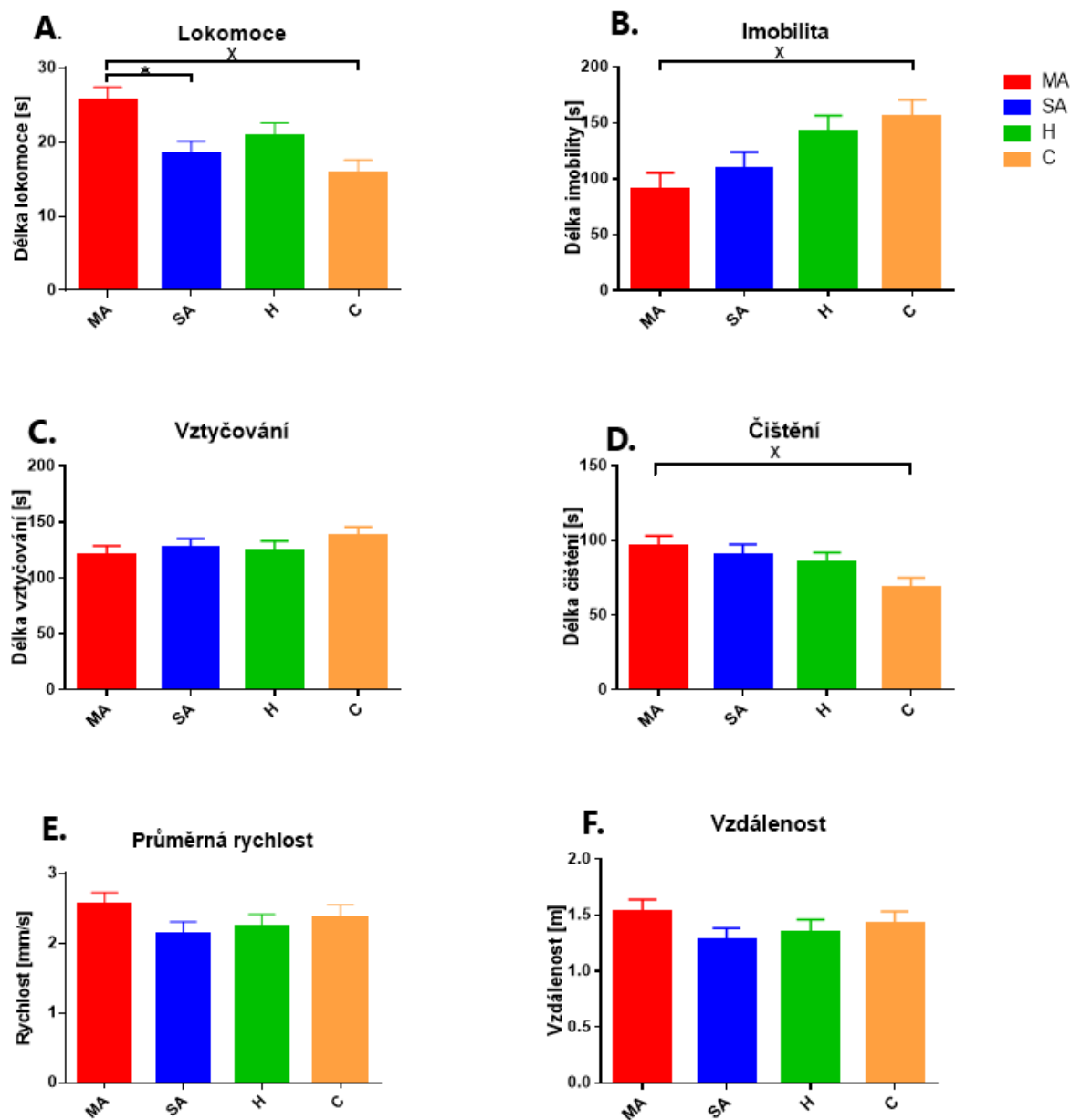
8.4. Laboras

Analýza dat odhalila významné rozdíly mezi skupinami [F(3, 116) = 5,414, p <0,05]. Jak vidíme v grafu 4, prenatalní aplikace MA významně ovlivnila délku času, který jedinci strávili lokomocí v neznámém prostředí. Jedinci prenatalně vystavení MA strávili více času lokomocí než jedinci vystavení prenatalní aplikaci (SA p <0,05) a než kontrolní skupina (p <0,05).

Taktéž prenatalní aplikace MA významně ovlivnila délku času, který jedinci strávili bez pohybu [F(3, 116) = 3,999, p <0,05]. Jedinci vystavení vlivu MA strávili výrazně méně času bez pohybu než kontrolní skupina (p <0,05).

Dále prenatalní aplikace MA ovlivnila délku času, který jedinci strávili čištěním se [F(3, 116) = 3,194, p <0,05]. Jedinci vystavení vlivu MA strávili výrazně více času čištěním se než kontrolní skupina (p <0,05).

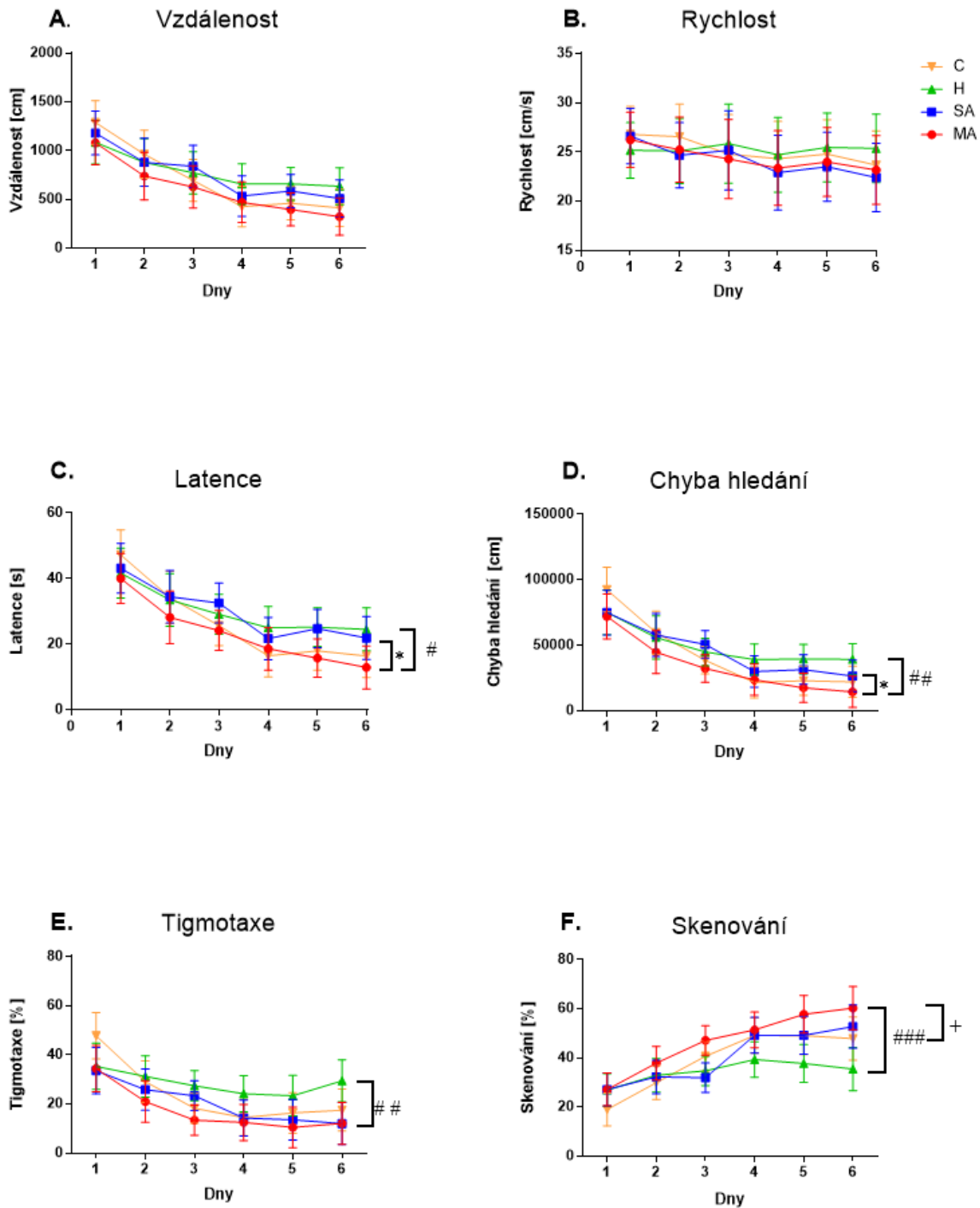
Rozdíly v ostatních parametrech nebyly statisticky významné.



Graf 4. Vliv prenatální aplikace MA, SA, Hypoxie a Kontrolního prostředí na chování jedinců ve Laboras testu. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie; C=kontrola. Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=30), A. Lokomoce. x $p < 0,05$ MA vs. C; * $p < 0,05$ MA vs. SA, B. Imobilita x $p < 0,05$ MA vs. C, C. Vztyčování, D. Čištění x $p < 0,05$ MA vs. C, E. Průměrná rychlost, F. Vzdálenost.

8.5. Morrisovo vodní bludiště

Učení



Graf 5. Vliv prenatalní aplikace MA, SA hypoxie a Kontrolního prostředí na proces učení v Morrisově vodním bludišti. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie;

C=kontrola, Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=8), A. Vzdálenost, B. Rychlost, C. Latence. * $p < 0,05$ MA vs SA; # $p < 0,05$ MA vs. H, D. Chyba hledání * $p < 0,05$ MA vs SA; ## $p < 0,01$ MA vs. H, E. Tigmotaxe ## $p < 0,01$ MA vs. H, F. Skenování ### $p < 0,01$ MA vs. H; + $p < 0,05$ MA vs. C.

Jak je patrné z grafu č. 5, prenatální expozice neovlivnila u zvířat délku uplavané trajektorie ani rychlost plavání v procesu učení v Morrisově vodním bludišti.

Statisticky významné rozdíly mezi skupinami jsme zaznamenali v latenci nalezení ostrůvku [$F(3, 28) = 5,2658, p < 0,05$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA strávili hledáním ostrůvku méně času než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,05$) nebo Hypoxii ($p < 0,05$).

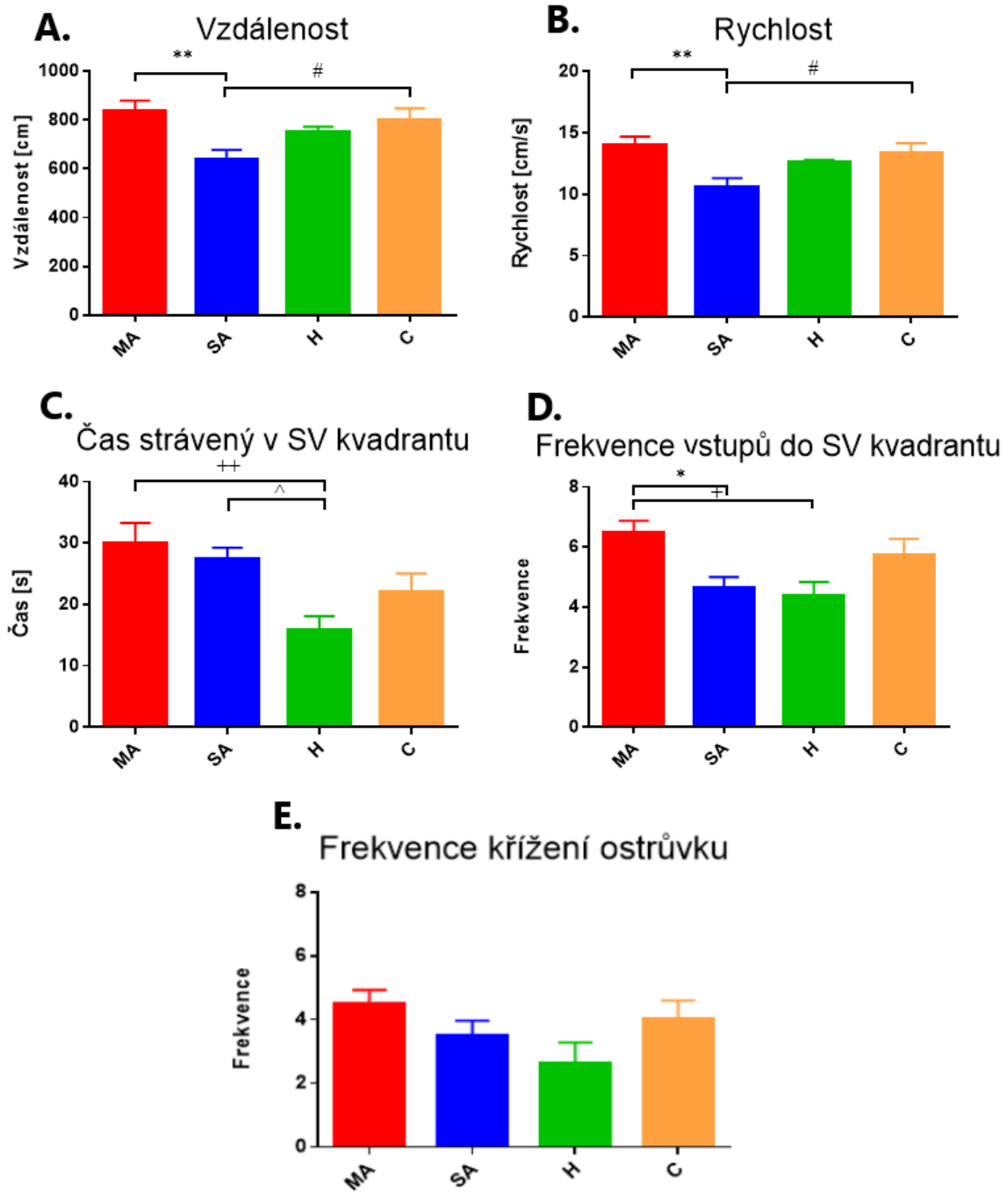
Další statisticky významné rozdíly jsme zaznamenali v chybě hledání [$F(3, 28) = 5,5324, p < 0,05$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA měli menší chybu hledání než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,05$) nebo Hypoxii ($p < 0,01$).

Statisticky významné rozdíly jsme zaznamenali v parametru tigmotaxe [$F(3, 28) = 5,4620, p < 0,01$] a skenování [$F(3, 28) = 9,505, p < 0,001$].

Jedinci vystavení prenatálnímu vlivu hypoxie používali k hledání ostrůvku tigmotaxi častěji než jedinci vystavení prenatálnímu vlivu MA ($p < 0,01$).

Jedinci vystavení prenatálnímu vlivu hypoxie také mnohem méně často používali k hledání ostrůvku strategii skenování v porovnání s jedinci vystavenými prenatálně MA ($p < 0,001$) a kontrolní skupinou ($p < 0,05$).

Probe test



Graf 6. Vliv prenatální aplikace MA, SA hypoxie a Kontrolního prostředí na „Probe“ test v Morrisově vodním bludišti. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie; C=kontrola, Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=8), A. Vzdálenost ** p < 0,01 MA vs SA; # p < 0,05 SA vs. C, B. Rychlost ** p < 0,01 MA vs SA; # p < 0,05 SA vs. C, C. Čas strávený v SV

kvadrantu ++ $p < 0,01$ MA vs H, $^{\wedge} p < 0,05$ SA vs. H, D. Frekvence vstupů do SV kvadrantu * $0,05$ MA vs SA, + $0,05$ MA vs H, E. Frekvence křížení ostrůvku.

Jak je patrné z grafu č. 6, prenatální expozice ovlivnila u zvířat v „Probe“ testu v Morrisově vodním bludišti délku uplavané trajektorie (vzdálenost) [$F(3, 28) = 4,933$, $p < 0,01$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA uplavali delší vzdálenost než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,01$). Kontrolní skupina uplavala větší vzdálenost než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,05$).

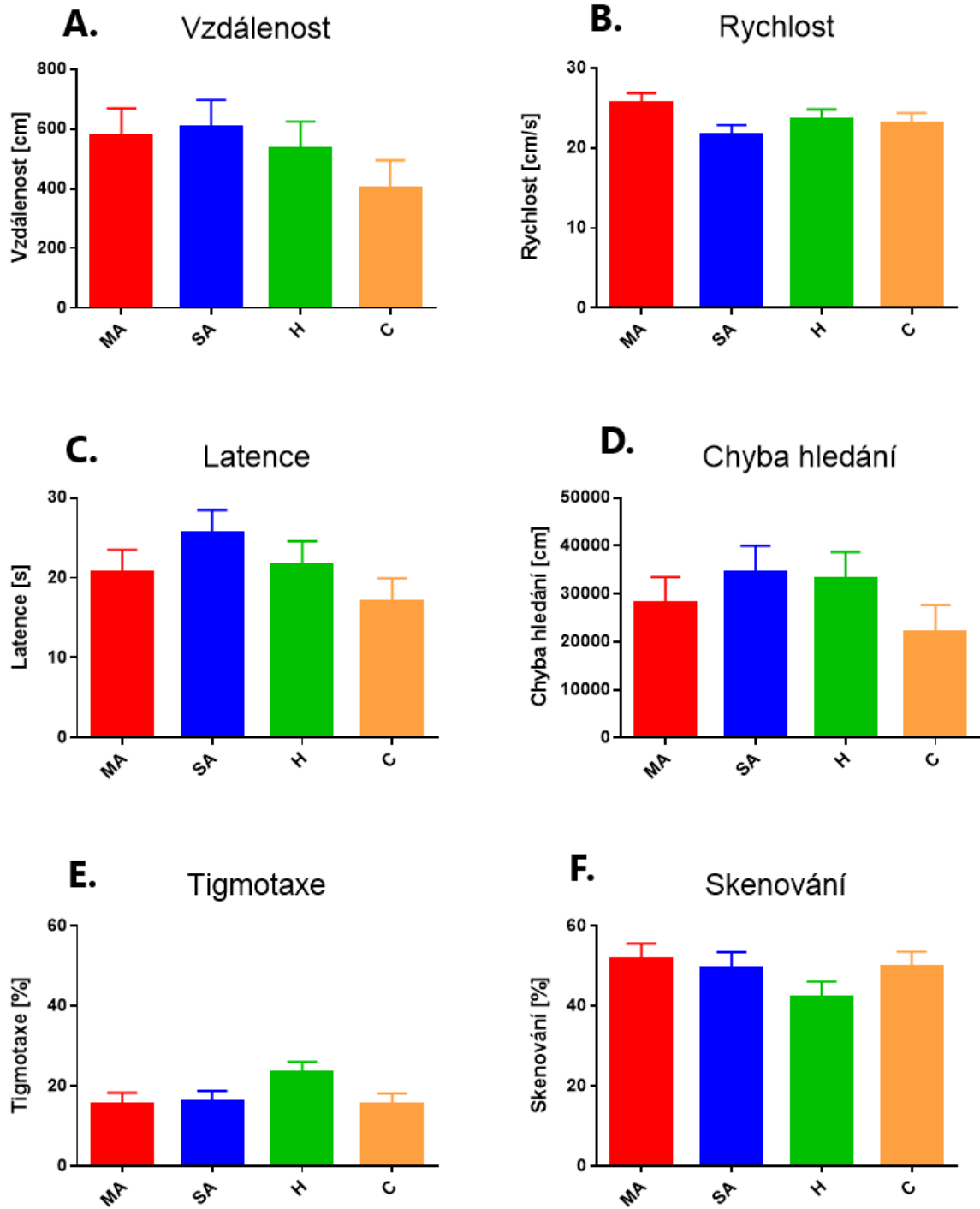
Rychlost plavání se mezi skupinami významně lišila [$F(3, 28) = 5,0736$, $p < 0,01$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA plavali větší rychlostí než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,01$). Kontrolní skupina jedinců plavala větší rychlostí než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,05$).

V čase stráveném v SV kvadrantu, tedy kvadrantu, kde byl umístěn ostrůvek v testu učení, jsme zaznamenali významné rozdíly [$F(3, 28) = 5,6576$ $p < 0,01$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA strávili v SV kvadrantu více času než jedinci prenatálně exponovaní hypoxii ($p < 0,01$). Jedinci prenatálně exponovaní SA strávili v SV kvadrantu více času než jedinci prenatálně exponovaní hypoxii ($p < 0,05$).

Rovněž ve frekvenci vstupů do SV kvadrantu se skupiny významně lišily [$F(3, 28) = 5,0983$, $p < 0,05$]. Jedinci prenatálně exponovaní MA vstupovali do SV kvadrantu častěji než jedinci prenatálně exponovaní hypoxii ($p < 0,05$). A také jedinci prenatálně exponovaní MA vstupovali do SV kvadrantu častěji než jedinci prenatálně exponovaní SA ($p < 0,05$).

Frekvence křížení ostrůvku nebyla prenatální expozicí ovlivněna.

Test paměti



Graf 7. Vliv prenatální aplikace MA, SA hypoxie a Kontrolního prostředí na paměť v Morrisově vodním bludišti. MA=metamfetamin; SA=fyziologický roztok; H=hypoxie; C=kontrola, Hodnoty jsou průměr ± SEM (n=8), A. Vzdálenost, B. Rychlost, C. Latence., D. Chyba hledání, E. Tigmotaxe, F. Skenování

Jak je patrné z grafu č.7, prenatální expozice neměla žádný vliv na test paměti v Morrisově vodním bludišti.

9. Diskuze

Cílem této disertační práce bylo ověřit naši hypotézu, že prenatální expozice MA a prenatální hypoxie vyvolají u samčích potomků příznaky podobné ADHD. V předkládané studii jsme březí samice vystavili účinkům MA v dávce 5mg/kg po celou dobu gestace a normobarické hypoxii (10 % O₂) po dobu jedné hodiny taktéž po celou dobu gestace. Dávka MA, kterou jsme zvolili odpovídá hodnotám naměřeným u plodů drogově závislých matek (Acuff-Smith et al. 1996). V jedné z našich předchozích studií jsme prokázali, že tato dávka vyvolá poškození paměti u dospělých jedinců (Fialová et al. 2015). Naše další studie pak přinesly důkazy o biochemických markerech ovlivněných prenatální expozicí MA (Bubeníková-Valešová et al. 2009, Šlamberová et al. 2014), které se podobaly charakteristice jednoho ze zvířecích modelů ADHD – SHR.

9.1. NORT a OLT

Test NORT a OLT jsme použili na testování paměti, sledovali jsme však také další parametry – rychlost pohybu a vzdálenosti, kterou jedinci v aréně během pokusu urazili.

Data v našem případě neprokázala žádné významné rozdíly v IR, který je hlavním hodnotícím parametrem u obou testů. Nebyly tedy pozorovány žádné poruchy paměti u dospívajících zvířat v obou testech paměti (NORT a OLT), které jsme provedli. Zaznamenali jsme pouze jeden statisticky významný výsledek. U testu NORT navštěvovali jedinci vystavení hypoxii nový objekt častěji než jedinci prenatálně vystavení SA, více času zkoumáním objektu ale nestrávili. Statisticky významné rozdíly jsme ale zaznamenali v dalších parametrech – rychlosti a vzdálenosti. Jedinci vystavení prenatálnímu vlivu hypoxie se pohybovali v testovací

aréně rychleji a také urazili větší vzdálenost než jedinci vystavení vlivu SA nebo MA v testu NORT. Jedinci vystavení vlivu hypoxie a MA urazili za stejný časový úsek větší vzdálenost v testu OLT v porovnání s kontrolní skupinou.

Co z těchto našich zjištění vyplývá? Častější navštěvování nového objektu jedinci s hypoxií můžeme dát do souvislosti s dalšími výsledky získanými v testech - tedy zvýšené pohybové aktivitě jedinců. Co se týče výsledků v této oblasti, naše zjištění se shodují se závěry předchozích studií. Podle jedné z předchozích studií byla u potkanů vystavených vlivu prenatální hypoxie zjištěna zvýšená pohybová aktivita, i když byli tito na prostředí arény předem habituováni (Hermans et al. 1992). U potkanů vystavených vlivu prenatální hypoxie byly pozorovány změny chování v open-field testu. Samci vykazovali známky hyperaktivity (Hermans et al. 1992) nebo u nich byla pozorována zvýšená anxieta a nevykazovali známky habituace na neznámé prostředí (Sab et al. 2013). Obdobné druhy hyperaktivity byly popsány také po prenatálním hypoxickém inzultu, který trval pouze jeden den (17. den gestace). V dospělosti pak potomci vykazovali spontánní motorickou hyperaktivitu a také hyperaktivitu při exploraci neznámého prostředí v open-field testu. Na rozdíl od našich výsledků u nich byly popsány i poruchy krátkodobé paměti. Hypoxie způsobila poruchy bílé hmoty v mozkové kůře v *corpus callosum* a mozkovém kmeni, ale ne v motorické kůře (Delcour et al. 2012). Hyperaktivita v open-field testu po prenatální hypoxii byla rovněž popsána u velmi mladých jedinců (PD 15) (Cai et al. 1999). Existuje ale i studie, která u mláďat po prenatální hypoxii (PD 21-24) naopak popisuje hypoaktivitu. Spojitost mezi hyperaktivitou a prenatální hypoxií tak tato studie nepotvrdila (Zhuravin et al. 2019). Rozdílné výsledky souvisí velmi pravděpodobně s použitým modelem hypoxie.

Prenatální hypoxie způsobila poruchy v maturaci neuronů a zvýšila neurodegeneraci v kortexu a *striatu* u jedinců starých měsíc, avšak tyto strukturální změny nebyly u dospělých jedinců už pozorovány (Dubrovskaya and Zhuravin 2010).

Naopak jedinci vystavení prenatalní aplikaci MA v dávce 5 mg/kg hyperaktivitu v pohybu po aréně vykazovali pouze u OLT testu. V tomto experimentu tedy dochází k částečné shodě s našimi předchozími studiemi, kdy prenatalní expozice MA neovlivnila chování potkanů v open-field testu ani testu anxiety (Schutová et al. 2009), naopak studie jiných autorů jsou ve shodě s našimi současnými zjištěními (Diaz et al. 2014). V tomto experimentu byli testováni dospělí jedinci, zatímco v našem případě se jednalo o adolescenty. Roli tedy může hrát i vyžívání nervové soustavy.

V našem experimentu nebyla prokázána žádná porucha paměti v NORT nebo OLT testu, což je v rozporu s našimi předchozími výsledky. Avšak v této studii jsme testovali jedince dospívající – adolescenty, zatímco v předchozí studii Fialové et al. 2015 byla použita dospělá zvířata. Maturace hipokampu by mohla být jedním z vysvětlení tohoto zjištění. Poruchy učení a paměti po prenatalní aplikaci MA byly u dospělých jedinců prokázány i v dalších studiích (Acuff-Smith et al. 1996, Williams et al. 2003, Herring et al. 2008).

Hipokampus je vývojově stará subkortikální část mozku. Anatomicky se skládá z *gyrus dentatus* a *cornu Ammonis* (tento je rozdělen na oblasti CA1-3) a spolu se subikulem a entorhinální kůrou tvoří hipokampální formaci (Barnes et al. 1990). Jednotlivé oblasti hipokampu se od sebe liší, jak anatomicky, tak funkčně.

U člověka zastává hipokampus řadu funkcí. Jeho hlavní rolí je zpracování paměti v procesu učení. Účastní se procesu formování vzpomínky a skrze své propojení s dalšími částmi mozku také jejího uložení v jiné mozkové struktuře. Zpracovává deklarativní paměť, kam se řadí i paměť sémantická (Henke et al. 1999), dále také zpracovává paměť epizodickou a prostorovou (Maguire et al. 1998). Kromě role v procesu učení a paměti se hipokampus účastní také dalších kognitivních procesů, jako je pozornost nebo vnímání a postřeh (Tavares et al. 2015). Je tudíž zapojen i do řady neurovývojových a psychiatrických poruch: schizofrenie (Pujol et al. 2014), deprese (Bijanki et al. 2014) nebo poruchy autistického spektra (Maier et al.

2015). Řada těchto onemocnění vzniká už v dětství a během dospívání, proto vývoj a dozrávání hipokampu může hrát jednu z klíčových rolí (Paus et al. 2008). Topograficky a histologicky je hipokampus vyvinut už při narození (Arnold and Trojanowski 1996), nicméně během dětství a dospívání dochází k morfologické maturaci a myelinizaci. Tyto změny mikrostruktury hipokampu jsou popisovány jako změny objemu nebo tvaru během vývoje dítěte (Arnold and Trojanowski 1996, Lavenex et al. 2007), souvisí s rozvojem paměti, a to během celého dětství a dospívání, byly popsány u dětí ve věku 6-14 let (Keresztes et al. 2017).

Hippokampus potkanů a člověka má anatomicky podobnou strukturu. Liší se však hlavními funkcemi. U potkanů se podílí na prostorové orientaci, krátkodobé, střednědobé i dlouhodobé paměti (Kesner et al. 2010). Vliv na dozrávání hipokampu a jeho cytoarchitekturu má u potkanů i mateřská péče (Liu et al. 2000). U člověka i u potkanů dochází k postnatálnímu dozrávání hipokampu. Zatímco většina pyramidových buněk vzniká prenatálně, granulárních buněk je v *gyrus dentatus* u potkanů postnatálně přítomno pouze 15 % (Diamond 1990). Růst a dozrávání jednotlivých částí hipokampu je ukončen během prvních 2 týdnů postnatálního vývoje. V 90 PND je už hipokampus plně vyvinutý (Abdelrahim and Eltony 2011). U člověka je oproti tomu 80 % granulárních buněk *gyrus dentatus* vytvořeno již před porodem (Rakic and Nowakowski 1981).

Jak už bylo v úvodu zmíněno, poškození mozku (hypoxií nebo jiným inzultem) vede k snížení objemu celého mozku nebo jeho části (zpravidla hipokampu). Avšak mozek novorozenců, který ještě není dozrálý (z důvodu nižší denzity axonů a dendritů) je na působení hypoxie mnohem méně náchylný (Zhu et al. 2005).

Fakt, že v našem experimentu nebyla prokázána souvislost mezi prenatální hypoxií a poruchami paměti je v rozporu s výsledky jiných autorů (Cunha-Rodrigues et al. 2018, Zhuravin et al. 2019). Prenatální hypoxie podle dřívějších výsledků stejného autora vedla ke změnám hipokampu, konkrétně ke změnám v CA1 oblasti (Zhuravin et al. 2009). Stejný autor

také v další ze svých studií prokázal, že prenatální hypoxie vyvolána 14. den gestace ovlivnila synapse v hipokampu a také kognitivní funkce spojené s hipokampem. Konkrétně se jednalo o narušený bazální synaptický přenos v CA1-CA3 synapsích u mladých jedinců, také pokles hladin GluN2B podjednotek NMDA receptoru. Tyto změny vedly k signifikantním deficitům v NORT testu (Zhuravin et al. 2019). Prenatální hypoxie dále podle jiné studie snížila expresi tří podjednotek NMDA receptoru v hipokampu (Wei et al. 2016)

Spojitost mezi anatomickými změnami hipokampu a vznikem ADHD byla prokázána v řadě studií. U dětí trpících ADHD bylo měřením magnetickou rezonancí prokázáno, že mají větší objem hipokampu než běžná populace, a to bilaterálně. Pravděpodobně se jedná o kompenzační odpověď na přítomnost poruch vnímání času nebo neustálé hledání stimulů, které jsou spojeny s ADHD (Plessen et al. 2006).

9.2. Voluntary running test

Naše výsledky ukázaly, že prenatální expozice MA v dávce 5 mg/kg a také prenatální hypoxie vedla ke zvýšené motorické aktivitě jedinců ve 30 PD oproti kontrolním skupinám (SA a kontrola). V 90 PD zvýšila hypoxie motorickou aktivitu oproti absolutní kontrole. V MA jedinců se hodnoty v porovnání s SA přiblížily signifikanci, signifikantně vyšší byly v porovnání s absolutní kontrolou.

Prenatální aplikace MA způsobuje trvalé změny CNS. Aplikace MA, zejména v 1. a 3. trimestru má trvalé následky zejména na serotoninergní i dopaminergní systém, které ovlivňují učení a vývoj mozku. MA ovlivňuje CNS skrze zvýšení katecholaminů v cytosolu neuronů. Zvýšení koncentrace katecholaminů je způsobeno nižším množstvím DA a NA na synapsích, jejich reaktivní metabolity navíc produkují volné radikály, které poškozují DNA a způsobují apoptózu buněk (Quinton and Yamamoto 2006). Nižší dávky MA (2-5 mg/kg) způsobily

snížení absorpce DA a serotoninu, zatímco vyšší dávky (10 mg/kg) zvýšily vychytávání DA i serotoninu (Won et al. 2001). U dospělých jedinců prenatalně (mezi 7. a 18. dnem březosti) exponovaných MA bylo prokázáno zvýšené uvolňování DA ve striatu (Heller et al. 2000). V jednom z našich předchozích experimentů byly prokázány vyšší hladiny DA v nucleus accumbens u potkanů prenatalně exponovaných MA (Bubeníková-Valešová et al. 2009).

Neexistují žádné biologické markery spojované s ADHD, existují pouze určité průvodní znaky, které se vyskytují u části pacientů s ADHD (Medin et al. 2019). Jeden z nich je dysfunkčnost dopaminergního systému v CNS. Dysfunkčnost dopaminergního systému způsobuje mimo jiné také nedostatek motivace, který je rovněž jeden z průvodních jevů ADHD (Volkow et al. 2011).

U dalších zvířecích modelů ADHD, jako např. SHR nebo NHE byly taktéž prokázány změny v dopaminergním systému. U juvenilních SHR byly prokázány zvýšené hladiny DA ve striatu a prefrontálním kortexu společně s upregulací D1 receptorů v prefrontálním kortexu a hypofunkcí D2 receptorů. Také u nich byla prokázána hyperexprese integrálního DAT zodpovědného za clearance DA (Viggiano et al. 2004).

Existují modely myši vykazující spontánní hyperaktivitu ve „Voluntary runnig“ testu, avšak nevykazují žádné jiné poruchy chování spojované s ADHD (Rhodes et al. 2001). Podávání apomorfínu (neselektivní DA agonista) vedlo u tohoto kmene myši k vymizení hyperaktivity, podání SCH 23390 (selektivní D1 antagonist) vedlo k snížení aktivity u kontrolních, nikoli u selektované hyperaktivní linie myši. Blokátory DAT receptorů – amfetamin, kokain a GR13909 snížily aktivitu u selektované linie, nikoli u kontrolní skupiny. Hyperaktivita může být tedy spojená s poruchou dopaminergní transmise, konkrétně D1 receptoru a DAT (Rhodes and Garland 2003).

Naše výsledky také ukázaly, že prenatalní hypoxie vedla ke zvýšené motorické aktivitě jedinců ve všech třech sledovaných obdobích života. Zvýšená lokomoční aktivita byla u zvířat

prenatálně exponovaných hypoxii zjištěna i v jiných studiích (Hermans et al. 1992), naše zjištění ohledně vlivu prenatální hypoxie na hyperaktivitu potkanů jsou tedy v souladu s předchozími.

9.3. Laboras

Test Laboras sleduje vliv MA a prenatální hypoxie na horizontální a vertikální pohybovou aktivitu potkanů v neznámém prostředí, přičemž potkani mají během testování domácí podmínky. Jedná se o alternativu k testu open-field.

Naše výsledky ukázaly, že prenatální expozice MA v dávce 5mg/kg vedla ke zvýšené motorické aktivitě jedinců v neznámém prostředí. Toto zjištění je v rozporu s výsledky z našich předchozích studií, které přímý vliv prenatální expozice MA na chování samců v neznámém prostředí nepotvrdily (Schutová et al. 2009, Schutová et al. 2010, Schutová et al. 2013). Dokonce jsme předpokládali, že změny vyvolané prenatální expozicí MA jsou patrné pouze v období raného postnatálního vývoje (Hrubá et al. 2008) a nepřetrvávají do dospělosti (Schutová et al. 2009). Tento výsledek nás tedy překvapil.

Nabízí se zde srovnání s prenatálními účinky amfetaminu, tedy drogy, od které je MA odvozen. V případě amfetaminu totiž existuje několik studií, které popisují vliv prenatální aplikace amfetaminu na zvýšenou motorickou aktivitu jedinců (Middaugh et al. 1974, Hitzemann et al. 1976). Stejně tak ale existují i studie, které tento vliv nepotvrdily (Vorhees 1985). Také podle Monder 1981 nevedla prenatální aplikace této drogy ke změnám aktivity jedinců v testu open-field. Změny chování způsobené amfetaminem jsou, stejně jako u MA připisovány jeho vlivem na monoaminergní systém (Tan 2003) Podle jedné studie měla prenatální expozice amfetaminu vliv na denzitu dopaminových receptorů zejména

v dorsolaterální arei putamen a v nucleus accumbens, a dále také vedla ke snížení lokomoce u těchto jedinců (Flores et al. 2011).

Také v případě MA existují ale studie, které jeho vliv na aktivitu jedinců potvrzují. Jedná se však o utlumující efekt pozorovaný u mláďat (Sato and Fujiwara 1986). Lokomoce je ovlivňována zejména mezolimbickým dopaminergním systémem. Jak už bylo zmíněno, v jedné z našich předchozích studií jsme prokázali, že prenatální expozice MA způsobí u samců zvýšenou hladinu DA v nucleus accumbens (Bubeníková-Valešová et al. 2009). Hlavní funkcí DA je modulovat rychlou ionotropní synaptickou neurotransmisi zprostředkovanou glutamátem. Další studie pak prokázala, že injekční aplikace DA do nucleus accumbens, tedy terminální části mezolimbického dopaminergního systému, vedla u potkanů k stimulaci lokomoce. Efektivnější ve stimulaci lokomoce byla už jen aplikace d-amfetaminu do nucleus accumbens (Pijnenburg et al. 1976).

Co se týče výsledků u hypoxických jedinců, naše výsledky neprokázaly žádné statisticky významné změny chování v experimentu Laboras. Tato zjištění jsou v rozporu s přechozími studii věnujícími se vlivu prenatální hypoxie. Avšak námi použitý model prenatální hypoxie není totožný, jako v těchto experimentech.

Prenatální hypoxie způsobená okluzí děložní tepny v 18. dni gestace způsobila u dospělých potomků zvýšenou anxiету a sníženou schopnost habituace. Tuto autor vysvětluje zranitelností vyvíjejícího se mozku, jehož správný vývin ovlivňují stresové faktory, jako třeba prenatální hypoxický inzult. Tyto faktory mohou ovlivnit vývoj neuronů hipokampu a preoligodendrocytů zodpovědných za tvorbu paměťové stopy, motorického vývoje a anxiety. (Sab et al. 2013). Bylo totiž prokázáno, že prenatální hypoxie zvyšuje hladinu kortikosteronu, která má za následek snížení glukokortikoidních receptorů mimo jiné i v hipokampu (Vetrovoy et al. 2021b). Jiná studie prokázala, že prenatální hypoxie v 14. - 16. dnu gestace vyvolaná

sníženým množstvím kyslíku po dobu 3 hodin ovlivňuje chování mláďat (samců i samic) v open-field testu (Vataeva et al. 2005).

9.4. Morrisovo vodní bludiště

Sledovali jsme vliv prenatální expozice MA v dávce 5 mg/kg a prenatální hypoxie na proces učení a paměti. A dále také na lokomoci, jelikož ve všech částech testu Morrisova vodního bludiště jsme taktéž zaznamenávali rychlost pohybu a délku uplavané trajektorie.

Z našich výsledků vyplývá, že prenatální expozice MA a prenatální hypoxie neměly žádný vliv na délku uplavané trajektorie ani na rychlost v testu učení. Dále jsme prokázali, že proces učení byl zhoršen u prenatální expozice SA a hypoxie ve srovnání s prenatální expozicí MA. Byla zjištěna prodloužená latence, tedy doba, po jakou jedinci ostrůvek hledali. Totožné výsledky jsme zaznamenali i u chyby hledání. Tato zjištění jsou ve shodě s našimi předchozími výsledky, kdy bylo taktéž zjištěno, že prenatální expozice MA nemá vliv na rychlost plavání, délku trajektorie ani latenci v procesu učení (Schutová et al. 2008, Hrubá et al. 2010, Macúchová et al. 2013). Taktéž dřívější studie Acuff-Smith et al. z roku 1996 neprokázala vliv nízké dávky (5 mg/kg) MA u potkanů na proces učení, ale naopak prokázala vliv vyšších dávek (15 a 20 mg/kg). Podle Aghazadeh et al. 2022 však prenatální expozice MA na proces učení v Morrisově vodním bludišti má. Konkrétně se podařilo prokázat vliv na prodloužení doby latence u adolescentních jedinců (PD 21).

Jak už bylo zmíněno v úvodu, existují studie potvrzující vliv prenatální expozice MA na proces učení u člověka. Děti ve věku 6-7 let prenatálně exponované MA vykázaly horší výsledky v testech učení než zdravé kontroly. Problémem studie však byl fakt, že některé matky užívaly během těhotenství i další látky (alkohol a tabák), které mohly mít také negativní dopad na výsledky dětí (Kwiatkowski et al. 2018).

Co se týče prenatálního vlivu SA, bylo prokázáno, že injekce placebo podávána březím samicím může způsobit stres a nepřímo tím ovlivnit vývoj mláďat (Šlamberová et al. 2002). Stres je také spojený s vyššími koncentracemi glukokortikoidů. Jejich vyšší koncentrace je zodpovědná za buněčnou smrt v *gyrus dentatus*. Tímto mechanismem může být ovlivněna funkce hipokampu (Gould et al. 1991). K podobným závěrům došly i další studie. Prenatální stres zhoršil výsledky v Morrisově vodním bludišti u dospělých samců. U samic pak byla zjištěna vyšší hladina kortikosteroidů a nižší hladina kortikosteroidních receptorů v hipokampu (Szuran et al. 2000). V dalším experimentu s použitím prenatálního stresu byly také změřeny vyšší hladiny kortikosteroidů (Modir et al. 2014).

Dále jsme zaznamenali statisticky významné rozdíly v použitých strategiích při hledání ostrůvku. Jedinci vystavení prenatálnímu vlivu hypoxie používali k hledání ostrůvku tigmataxi častěji než jedinci vystavení prenatálnímu vlivu MA. Dále také jedinci vystavení prenatálnímu vlivu hypoxie mnohem méně často používali k hledání ostrůvku strategii skenování v porovnání s jedinci vystavenými prenatálně MA a kontrolní skupinou.

Tigmataxe je jeden z nejčastějších typů chování, které se vyskytuje u hlodavců při exploraci neznámého prostředí. Je považována za jeden z příznaků anxiety nebo přímo strachu (Huang et al. 2012). Jedná se o plavání po okraji bazénu, kdy jedinec vstupuje do středu pouze ojedinele. Tento typ strategie je charakteristický pro první dva dny procesu učení. Naopak strategie skenování představuje neorganizované plavání uprostřed bazénu, kdy k nalezení ostrůvku dochází náhodně. Tato strategie se vyskytuje 3-4. den učení (Janus 2004). Pokud tedy jedinec používá k nalezení ostrůvku tigmataxi i v dalších dnech, zřídka kdy se mu to podaří. Tímto bývá proces učení narušen. Často tak četnost využití tigmataxe jako strategie hledání ostrůvku přímo souvisí s parametry latence a chybou hledání (Goodman and McIntyre 2017). A přesně tak je tomu i v našem případě, kdy jedinci vystavení prenatální hypoxii častěji

používali tigmotaxi, méně skenování, měli prodlouženou dobu latence nalezení ostrůvku a častější chybu hledání.

Naše výsledky tedy prokazují, že prenatální hypoxie způsobila poruchy učení a změny v strategiích hledání ostrůvku. K podobným závěrům došly i předchozí studie (Wei et al. 2016). Prenatální hypoxie vyvolaná v 17. gestační den operativně na dobu 30 minut, způsobila prodloužení doby latence v Morrisově vodním bludišti. Prenatální hypoxie měla taktéž vliv na snížení exprese a aktivity NO-syntázy v mozku (Cai et al. 1999). Inhibice NO-syntázy je jedním z možných vysvětlení mechanismu účinku prenatální hypoxie na proces učení. Inhibice NO-syntázy v mozku potkana totiž vedla k poruchám učení a také paměti (Estall et al. 1993, Mysliveček et al. 1996). K podobným závěrům, tedy že prenatální hypoxie vedla k poruchám učení v Morrisově vodním bludišti, dospěly i další studie (Vataeva et al. 2005, Tyulkova et al. 2015). Další z možných vysvětlení poruchy učení je poškození hipokampu. V hipokampu byly popsány dvě zóny, nervové projekce, účastníci se procesem učení v Morrisově vodním bludišti a passive avoidance testu. Jedná se spoje axonů granulórních neuronů gyrus dentatus s pyramidovými buňkami CA3 regionu hipokampu: první intra- a infrapyramidová a druhá suprapyramidová. Existuje totiž pozitivní korelace mezi velikostí intra- a infrapyramidové zóny a úspěšností v testu učení (Wimer et al. 1971, Vataeva et al. 2005). Jelikož prenatální hypoxie má negativní vliv na funkci hipokampu (Golan et al. 2009, Nalivaeva et al. 2018, Zhuravin et al. 2019), je toto další z možných vysvětlení mechanismu účinku prenatální hypoxie na proces učení. Předchozí studie potvrzují, že léze hipokampu se projevují zhoršenými výsledky v Morrisově vodním bludišti (Morris et al. 1982) a to zejména ve variantách se skrytým ostrůvkem (Brandeis et al. 1989, McNaughton et al. 1996).

Probe test je určen hlavně k analýze konsolidace paměťové stopy při hledání ostrůvku. Přestože jedinec uspěje v testu učení, může vykázat horší výsledky v Probe testu, jelikož se naučil najít ostrůvek bez použití orientace v prostoru (D'Hooge and De Deyn 2001). Úspěšnost

konsolidace paměťové stopy je dána časem, který jedinec stráví v cílovém kvadrantu, tedy kvadrantu, kde byl umístěn ostrůvek.

Naše výsledky z Probe testu ukázaly signifikantní rozdíly. Jedinci prenatalně exponovaní MA uplavali delší vzdálenost než jedinci prenatalně exponovaní SA. Kontrolní skupina jedinců uplavala větší vzdálenost než jedinci prenatalně exponovaní SA. Rychlost plavání byla taktéž ovlivněna prenatalní expozicí. Jedinci prenatalně exponovaní MA plavali větší rychlostí než jedinci prenatalně exponovaní SA. Kontrolní skupina jedinců plavala větší rychlostí než jedinci prenatalně exponovaní SA. Vyšší rychlost plavání jsme u prenatalní expozice MA zaznamenali už dříve, jednalo se však o experiment s použitím samic, zatímco v našem experimentu jsme použili pouze samce (Macúchová et al. 2013). Vyšší rychlost plavání může znamenat vyšší motivaci k nalezení ostrůvku. Jelikož ale v našem experimentu nebyla prokázána porucha učení ani paměti u MA exponovaných jedinců může se jednat pouze o jeden z projevů motorické hyperaktivity, který jsme zaznamenali ve Voluntary running testu. Delší trajektorie, kterou MA jedinci urazili, jen podporuje tuto naši teorii.

Co se týče času stráveného v SV kvadrantu, tedy kvadrantu, kde byl umístěn ostrůvek, prokázali jsme, že jedinci prenatalně exponovaní MA strávili více času než jedinci prenatalně exponovaní hypoxií. Jedinci prenatalně exponovaní SA strávili v SV kvadrantu více času než jedinci prenatalně exponovaní hypoxií. Toto zjištění je v částečné shodě s předchozími (Modir et al. 2014). Ukázalo se tedy, že jedinci vystavení hypoxií měli horší výsledky než ostatní skupiny s prenatalním inzultem. Toto podporuje naše zjištění z testu učení, který byl prenatalní hypoxií ovlivněn. Naopak frekvence křížení ostrůvku nebyla prenatalní expozicí ovlivněna.

Z našich dat vyplývá, že prenatalní expozice MA neměla žádný vliv na paměť. Což je v souladu s předchozími výsledky z naší laboratoře (Schutová et al. 2008, Hrubá et al. 2010, Macúchová et al. 2013), ale také s předchozími výsledky ostatních autorů (Acuff-Smith et al. 1996).

Novější výzkumy však ukazují, že prenatální expozice MA paměť může ovlivnit. V experimentu s použitím myši bylo zjištěno, že prenatální expozice MA zpomaluje neuronální růst a synaptogenezi a tím zhoršuje paměť u dospívajících a dospělých jedinců. Březím samicím byl podáván MA s.c. v rozmezí 8.-15. den gestace. Přičemž důsledky prenatální expozice MA byly zjišťovány na vzorcích z buněčných kultur mozku 15 dní starých embryí. Z buněčných kultur embryí bylo zjištěno, že jedinci prenatální expozice MA zmenšila délku a průměr axonů, dále bylo sníženo množství presynaptického proteinu v hipokampu. Naopak u buněčných kultur izolovaných z mozku dospělých jedinců byl presynaptický faktor zvýšen. Také byl u MA jedinců zvýšený BDNF v prefrontálním kortexu a striatu. Poruchy paměti byly pozorovány u adolescentních i dospělých jedinců (Benya-aphikul et al. 2021).

Také podle další studie došlo po prenatální aplikaci MA k ovlivnění paměti. Konkrétně se jednalo o prodloužení doby latence hledání ostrůvku u adolescentních jedinců (PD 21 a PD 33). V tomto experimentu navíc autor dále prokázal, že po prenatální aplikaci MA dochází k útlumu dlouhodobé potenciace v hipokampu, taktéž u adolescentních jedinců (Aghazadeh et al. 2022). Rozdílné výsledky tohoto a našich experimentů mohou být způsobeny jak věkem pokusných jedinců (v našem případě byl experiment prováděn na dospělých jedincích), tak i rozdílnou metodikou Morrisova vodního bludiště.

V našem experimentu se nepodařilo prokázat, že by prenatální hypoxie měla jakýkoliv vliv na paměť v Morrisově vodním bludišti nebo další ze sledovaných parametrů v tomto testu. Tyto naše výsledky se opět shodují s předchozími studiemi, kdy prenatální inzultem vyvolaná hypoxie poruchu paměti nezpůsobila (Cai et al. 1999).

Existují ale i studie dokazující opak. Hypoxie vyvolaná mezi 14.-16. dnem gestace prodloužila u exponovaných jedinců dobu latence hledání ostrůvku. Ve stejném experimentu ale autoři prokázali, že hypoxie vyvolaná mezi 11.-13. dnem gestace nebo mezi 18.-20. dnem gestace dobu latence hledání ostrůvku vůbec neovlivnila (Vataeva et al. 2005).

10. Shrnutí vlivu prenatální aplikace MA a hypoxie na příznaky podobné ADHD

Jak už bylo popsáno v úvodu práce, přesný původ a patofyziologie ADHD stále není známá. Zvířecí modely psychiatrických onemocnění a tedy i ADHD onemocnění bývají posuzovány na základě tří kritérií: „Face validity“, „Construct validity“ a „Predictive validity“ (Russell 2011, de la Peña et al. 2018).

„Face validity“ se týká podobných symptomů člověka a u zvířete. Tedy hyperaktivita, impulzivita a nepozornost. (Russell 2011, Sagvolden et al. 2012). „Construct validity“ se týká podobného patofyziologického mechanismu. Zejména odchylky monoaminergního systému (Leo and Gainetdinov et al. 2013). „Predictive validity“ zahrnuje podobnou odpověď na farmakologickou, psychologickou nebo chirurgickou terapii. (de la Peña et al. 2018).

Co se týče „Face validity“ v našem experimentu se podařilo prokázat, že prenatální expozice MA v dávce 5 mg/kg vede zejména ke zvýšené pohybové aktivitě, která se projevila hned v několika testech (OLT, Voluntary running, Laboras). Klíčovým je v našem případě hyperaktivita ve „Voluntary running“ testu. Naopak poruchy učení a paměti prenatální expozice MA v našem případě nezpůsobila.

Prenatální hypoxie vedla jednak k hyperaktivitě v testech NORT, OLT a „Voluntary running“ a také k poruše učení v testu Morrisova vodního bludiště. Avšak samotnou přítomností hyperaktivního chování nelze zvíře charakterizovat jako model ADHD. Jelikož se jedná o modelové situace, je nutné si položit otázku, jestli by například dítě s diagnózou ADHD bylo hyperaktivní v podobné situaci nebo podobném testu. Definice ADHD totiž dle DSM nezahrnuje samotnou hyperaktivitu, doslova uvádí, že jedinec není vždy hyperaktivní, ale

popisuje, že chování jedince trvalo po dobu 6 měsíců a vyústilo do stavu maladaptace a inkonzistence s vývojovou úrovní jedince (Sagvolden et al. 2009).

Co se týče „Construct validity“ a tedy zejména poruch monoaminergního systému, v jedné z našich předchozích studií bylo zjištěno, že prenatální expozice MA zvyšuje hladinu DA v nucleus accumbens (Bubeníková-Valešová et al. 2009). Hlavní funkcí DA je modulovat rychlou ionotropní synaptickou neurotransmisi zprostředkovanou glutamátem. Nejužívanější zvířecí model ADHD, tedy SHR mají sníženou aktivaci DRD1 ve striatu, což vede ke zhoršení funkce NMDA receptoru (Papa et al. 1998). Další z našich předchozích experimentů prokázal, že prenatální expozice MA vede ke změnám v NR1 podjednotce NMDA receptoru v hipokampu (Šlamberová et al. 2014). Prenatální hypoxie způsobila snížení exprese několika podjednotek NMDA receptoru v hipokampu (Wei et al. 2016). Co se týče „Predictive validity“-terapie ADHD nebyla předmětem našeho výzkumu.

Nejrelevantnějším zvířecím modelem ADHD tak zůstávají SHR, u kterých se projevují všechny behaviorální parametry ADHD a také většina neurobiologických. SHR mají vyšší hladinu DA v nucleus accumbens shell a juvenilní SHR mají vyšší hladinu DA ve striatu a prefrontální kůře. Také u nich byla popsána upregulace D1 receptorů (DRD1) v prefrontální kůře, hypofunkce D2 receptorů nebo hyperexprese integrálního plasmalemnálního proteinu v dopaminovém transportéru zodpovědném za clearance DA (Viggiano et al. 2004).

Podle jedné z nejnovějších teorií o původu ADHD jde o deficit energie v těle způsobený nedostatečnou produkcí laktátu astrocyty v mozku. Děti trpící ADHD svou hyperaktivitou zvyšují produkci laktátu ve svalech a kompenzují tím nedostatečnou produkci laktátu astrocyty mozku. Toto tvrzení bylo podpořeno i u zvířecího modelu ADHD. U SHR byla zjištěna vyšší hladina MCT-1, transportéru, který se podílí na transportu laktátu skrze hematoencefalickou bariéru (Medin et al. 2019).

V současném experimentu jsme však v několika případech dosáhli odlišných výsledků než v předchozích experimentech prováděných v naší laboratoři. Naše studie z roku 2009 neprokázala žádný významný vliv prenatální MA expozice na chování zvířat v open-field testu (Schutová et al. 2009). Dále naše předchozí studie prokázala vliv prenatální expozice MA na poruchy paměti a dalších kognitivních funkcí u dospělých jedinců (Fialová et al. 2015). Tyto rozdílné výsledky nás překvapily a ukazují na nutnost provedení dalších experimentů v této oblasti.

Otázka, jestli je prenatální expozici MA možno považovat za vhodný model ADHD tak zůstává nezodpovězena. ADHD je choroba heterogenního původu s různými behaviorálními symptomy. Heterogenita symptomů pravděpodobně pochází z kombinace genetických a environmentálních faktorů, které nemoc způsobují.

Podobný neurobiologický původ ADHD a deficitů způsobených prenatální expozicí MA však nemůžeme i vzhledem k našim aktuálním výsledkům vyloučit, jelikož obojí vykazují podobné behaviorální a také biochemické charakteristiky.

11. Závěr

Z našich výsledků vyplývá, že prenatální expozice MA v dávce 5 mg/kg není možno použít jako validní animální model ADHD, přestože vyvolává některé ze symptomů tohoto onemocnění, konkrétně hyperaktivní chování. Hyperaktivní chování se nám podařilo prokázat v testech Voluntary running, Laboras i OLT. Také některé patofyziologické charakteristiky jsou podobné (zvýšená hladina dopaminu). Avšak poruchy učení ani paměti podle našich zjištění nezpůsobuje. K upřesnění našich závěrů by bylo třeba provést řadu dalších experimentů. Proto můžeme pouze konstatovat, že lze prenatální expozici MA u potkana využít k vyvolání hyperaktivního chování.

Přestože prenatální hypoxie byla už v minulosti použita jako model ADHD v našem případě se také neosvědčila. Námi získané výsledky z působení prenatální hypoxie 10 % O₂ trvající jednu hodinu denně po celou dobu březosti, prokázaly, že způsobuje poruchy učení, poruchy paměti však prokázány nebyly a to jak v testu Morrisova vodního bludiště, tak i v testu NORT a OLT. Co se týče hyperaktivního chování i zde nejsou výsledky tak jednoznačné. Ačkoliv bylo hyperaktivní chování prokázáno v testu Voluntary running i NORT a OLT, v testu Laboras hyperaktivita hypoxických jedinců prokázána nebyla. Z tohoto důvodu podle našich závěrů také plně nevyhovuje.

12. Seznam použité literatury:

1. ABAR B, LAGASSE LL, WOULDES T, DERAUF C, NEWMAN E, SHAH R, SMITH LM, ARRIA AM, HUESTIS MA, DELLAGROTTA S, DANSEREAU LM: Cross-national comparison of prenatal methamphetamine exposure on infant and early child physical growth: a natural experiment. *Prevention science*, 15(5): 767-76, 2014
2. ABDELRAHIM EA, ELTONY SA. Postnatal development of the hippocampal formation in male albino rats: histological, immunohistochemical, and morphometric studies. *Egyptian Journal of Histology*, 34(2): 346-64, 2011
3. ACCORNERO VH, AMADO AJ, MORROW CE, XUE L, ANTHONY JC, BANDSTRA ES: Impact of prenatal cocaine exposure on attention and response inhibition as assessed by continuous performance tests. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP*, 28.3: 195, 2007
4. ACKERMAN JP, LLORENTE AM, BLACK MM, ACKERMAN CS, MAYES LA, NAIR P: The effect of prenatal drug exposure and caregiving context on children's performance on a task of sustained visual attention. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP*, 29.6: 467, 2008
5. ACUFF-SMITH KD, SCHILLING MA, FISHER JE, VORHEES CV. Stage-specific effects of prenatal d-methamphetamine exposure on behavioral and eye development in rats. *Neurotoxicology and teratology*, 18(2):199-215, 1996

6. AGHAZADEH R, ROSHAN-MILANI S, DERAFFSHPOUR L, SABOORY E. Effects of prenatal methamphetamine exposure on spatial cognition and hippocampal synaptic plasticity in adolescent rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 82(6): 471-85, 2022
7. ALBERTSON TE, DERLET RW, VAN HOOZEN BE. Methamphetamine and the expanding complications of amphetamines. *Western Journal of Medicine*, 170(4): 214, 1999
8. AMINI B, YANG PB, SWANN AC, DAFNY N. Differential locomotor responses in male rats from three strains to acute methylphenidate. *International journal of neuroscience*, 114(9): 1063-84, 2004
9. ANDO K, JOHANSON CE, SEIDEN LS, SCHUSTER CR. Sensitivity changes to dopaminergic agents in fine moto control of rhesus monkeys after repeated methamphetamine administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 22(5): 737-43, 1985
10. ARCHER T, DANYSZ W, FREDRIKSSON A, JONSSON G, LUTHMAN J, SUNDSTRÖM E, TEILING A. Neonatal 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletions: motor activity and performance in maze learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 31(2): 357-64, 1988

11. ARIAGNO R, KARCH SB, MIDDLEBERG R, STEPHENS BG, VALDÈS-DAPENA M. Methamphetamine ingestion by a breast-feeding mother and her infant's death: People v Henderson. *JAMA*, 274(3): 215, 1995
12. ARNOLD LE, DISILVESTRO RA: Zinc in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Child & Adolescent Psychopharmacology*, 15.4: 619-627, 2005
13. ARNOLD SE, TROJANOWSKI JQ. Human fetal hippocampal development: I. Cytoarchitecture, myeloarchitecture, and neuronal morphologic features. *Journal of Comparative Neurology*, 367(2): 274-92, 1996
14. ARON JL, PAULUS MP. Location, location: using functional magnetic resonance imaging to pinpoint brain differences relevant to stimulant use. *Addiction*, 102: 33-43, 2007
15. ASHERSON, P. ADHD across the lifespan. *Medicine*, 40.11: 623-627, 2012
16. ATALAR EG, UZBAY T, KARAKAŞ S: Modeling Symptoms of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder in a Rat Model of Fetal Alcohol Syndrome. *Alcohol and Alcoholism*, 51.6: 684-690, 2016
17. AVALE ME, FALZONE TL, GELMAN DM, LOW MJ, GRANDY DK, RUBINSTEIN M. The dopamine D4 receptor is essential for hyperactivity and impaired behavioral inhibition in a mouse model of attention deficit/hyperactivity disorder. *Molecular psychiatry*, 9(7):718-26, 2004

18. BABENKO O, KOVALCHUK I, METZ GA. Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 48: 70-91, 2015
19. BARKLEY RA: Behavioral inhibition, sustained attention, and executive functions: constructing a unifying theory of ADHD. *Psychological bulletin*, 121.1: 65, 1997
20. BARNES CA, MCNAUGHTON BL, MIZUMORI SJ, LEONARD BW, LIN LH. Comparison of spatial and temporal characteristics of neuronal activity in sequential stages of hippocampal processing. *Progress in brain research*, 83: 287-300, 1990
21. BARR AM, PANENKA WJ, MACEWAN GW, THORNTON AE, LANG DJ, HONER WG: The need for speed: an update on methamphetamine addiction. *J Psychiatry Neurosci*, 31: 301–13, 2006
22. BEAINO G, KHOSHNOOD B, KAMINSKI M, MARRET S, PIERRAT V, VIEUX R, THIRIEZ G, MATIS J, PICAUD JC, ROZÉ JC, ALBERGE C. Predictors of the risk of cognitive deficiency in very preterm infants: the EPIPAGE prospective cohort. *Acta Paediatrica*, 100(3): 370-8, 2011
23. BELL DS: The experimental reproduction of amphetamine psychosis. *Archives of General Psychiatry*, 29.1: 35-40, 1973

24. BENYA-APHIKUL H, PONGRAKHANANON V, CHETPRAYOON P, SOOKSAWATE T, RODSIRI R. Neuronal growth and synaptogenesis are inhibited by prenatal methamphetamine exposure leading to memory impairment in adolescent and adult mice. *Toxicology Letters*, 351:99-110, 2021
25. BIEDERMAN J, PETTY CR, BHIDE PG, WOODWORTH KY, FARAONE S: Does exposure to maternal smoking during pregnancy affect the clinical features of ADHD? Results from a controlled study. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 13.1: 60-64, 2012
26. BIJANKI KR, HODIS B, BRUMM MC, HARLYNN EL, MCCORMICK LM. Hippocampal and left subcallosal anterior cingulate atrophy in psychotic depression. *PloS one*; 9(10): e110770, 2014
27. BILLING L, ERIKSSON M, JONSSON B, STENEROTH G, ZETTERSTRÖM R. The influence of environmental factors on behavioural problems in 8-year-old children exposed to amphetamine during fetal life. *Child abuse & neglect*; 18(1):3-9, 1994
28. BLACK KI, STEPHENS C, HABER PS, LINTZERIS N. Unplanned pregnancy and contraceptive use in women attending drug treatment services. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*; 52(2): 146-50, 2012

29. BOBB AJ, CASTELLANOS FX, ADDINGTON AM, RAPOPORT JL: Molecular genetic studies of ADHD: 1991 to 2004. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 141.6: 551-565, 2006
30. BOCKHORST KH, NARAYANA PA, LIU R, AHOBILA-VIJJULA P, RAMU J, KAMEL M, WOSIK J, BOCKHORST T, HAHN K, HASAN KM, PEREZ-POLO JR. Early postnatal development of rat brain: in vivo diffusion tensor imaging. *Journal of neuroscience research*; 86(7):1520-8, 2008
31. BOKSA P, EL-KHODOR BF. Birth insult interacts with stress at adulthood to alter dopaminergic function in animal models: possible implications for schizophrenia and other disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 27(1-2):91-101, 2003
32. BOUCHARD MF, BELLINGER DC, WRIGHT RO, WEISSKOPF MG: Attention deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides in US children 8–15 years. *Pediatrics*, 125.6: e1270, 2010
33. BRANDEIS R, BRANDYS Y, YEHUDA S. The use of the Morris water maze in the study of memory and learning. *International Journal of Neuroscience*; 48(1-2): 29-69, 1989
34. BRINKER MJ, COHEN JG, SHARRETTE JA, HALL TA. Neurocognitive and neurodevelopmental impact of prenatal methamphetamine exposure: A comparison study of prenatally exposed children with nonexposed ADHD peers. *Applied Neuropsychology: Child*, 8(2): 132-9, 2019

35. BUBENIKOVA-VALESOVA V, KACER P, SYSLOVA K, RAMBOUSEK L, JANOVSKY M, SCHUTOVA B, HRUBA L, SLAMBEROVA R: Prenatal methamphetamine exposure affects the mesolimbic dopaminergic system and behavior in adult offspring. *Int J Dev Neurosci*, 27: 525-530, 2009
36. BUSH PG, MAYHEW TM, ABRAMOVICH DR, AGGETT PJ, BURKE MD, PAGE KR: Maternal cigarette smoking and oxygen diffusion across the placenta. *Placenta*, 21.8: 824-833, 2000
37. CAI Z, XIAO F, LEE B, PAUL IA and RHODES PG: Prenatal hypoxia-ischemia alters expression and activity of nitric oxide synthase in the young rat brain and causes learning deficits. *Brain research bulletin*, 49.5: 359-365.1999
38. CAREY MP, DIEWALD LM, ESPOSITO FJ, PELLICANO MP, CARNEVALE UA, SERGEANT JA, PAPA M, SADILE AG: Differential distribution, affinity and plasticity of dopamine D-1 and D-2 receptors in the target sites of the mesolimbic system in an animal model of ADHD. *Behavioural brain research*, 94.1: 173-185, 1998
39. CASTELLANOS FX, GIEDD JN, MARSH WL, HAMBURGER SD, VAITUZIS AC, DICKSTEIN DP, SARFATTI SE, VAUSS YC, SNELL JW, LANGE N, KAYSEN D. Quantitative brain magnetic resonance imaging in attention-deficit hyperactivity disorder. *Archives of general psychiatry*; 53(7):607-16, 1996

40. CASTELLANOS FX, LEE PP, SHARP W, JEFFRIES NO, GREENSTEIN DK, CLASEN LS, BLUMENTHAL JD, JAMES RS, EBENS CL, WALTER JM, ZIJDENBOS A. Developmental trajectories of brain volume abnormalities in children and adolescents with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Jama*; 288(14):1740-8, 2002
41. CERBONE A, PELLICANO MP, SADILE AG. Evidence for and against the Naples high-and low-excitability rats as genetic model to study hippocampal functions. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 17(3): 295-303, 1993
42. CERNERUD LA, ERIKSSON M, JONSSON B, STENEROTH G, ZETTERSTROM R. Amphetamine addiction during pregnancy: 14-year follow-up of growth and school performance. *Acta paediatrica*; 85(2): 204-8, 1996
43. CLANCY B, FINLAY BL, DARLINGTON RB, ANAND KJ. Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*; 28(5): 931-7, 2007
44. CLARKE ME, SCHLOFF S, BOTHUN ED. Triangular congenital cataract morphology associated with prenatal methamphetamine exposure. *Journal of American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*; 13(4): 408-9, 2009
45. CLAYCOMB CD, RYAN JJ, MILLER LJ, SCHNAKENBERG-OTT SD: Relationships among attention deficit hyperactivity disorder, induced labor, and

- selected physiological and demographic variables. *Journal of clinical psychology*, 60.6: 689-693, 2004
46. COHEN AL, SHULER C, MCALLISTER S, FOSHEIM GE, BROWN MG, ABERCROMBIE D, ANDERSON K, MCDUGAL LK, DRENZEK C, ARNOLD K, JERNIGAN D. Methamphetamine use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections. *Emerging infectious diseases*; 13(11): 1707, 2007
47. CUNHA-RODRIGUES MC, DO NASCIMENTO BALDUCI CT, TENÓRIO F, BARRADAS PC. GABA function may be related to the impairment of learning and memory caused by systemic prenatal hypoxia-ischemia. *Neurobiology of Learning and Memory*; 149: 20-7, 2018
48. CRUICKSHANK CC, DYER KR. A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction*; 104(7): 1085-99, 2009
49. DAHSHAN A. Prenatal exposure to methamphetamine presenting as neonatal cholestasis. *Journal of clinical gastroenterology*; 43(1): 88-90, 2009
50. DARKE S, KAYE S, MCKETIN R, DUFLOU J. Major physical and psychological harms of methamphetamine use. *Drug and alcohol review*; 27(3): 253-62, 2008
51. DATTEL BJ: Substance abuse in pregnancy. *Seminars in perinatology*, 14.2: 179-187, 1990

52. DAVIDS E, ZHANG K, KULA NS, TARAZI FI, BALDESSARINI RJ. Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 301(3): 1097-102, 2002
53. DAVIDSON C, GOW AJ, LEE TH, ELLINWOOD EH: Methamphetamine neurotoxicity: necrotic and apoptotic mechanisms and relevance to human abuse and treatment. *Brain Research Reviews*, 36.1: 1-22, 2001
54. DECKER MJ, HUE GE, CAUDLE WM, MILLER GW, KEATING GL, RYE DB. Episodic neonatal hypoxia evokes executive dysfunction and regionally specific alterations in markers of dopamine signaling. *Neuroscience*; 117(2): 417-25, 2003
55. DECKER MJ, JONES KA, SOLOMON IG, KEATING GL, RYE DB: Reduced extracellular dopamine and increased responsiveness to novelty: neurochemical and behavioral sequelae of intermittent hypoxia. *Sleep*, 28.2: 169-176, 2005
56. DE LA PEÑA JB, DELA PEÑA IJ, CUSTODIO RJ, BOTANAS CJ, KIM HJ, CHEONG JH. Exploring the validity of proposed transgenic animal models of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Molecular Neurobiology*; 55: 3739-54, 2018
57. DELL'ANNA ME, CALZOLARI S, MOLINARI M, IUVONE L, CALIMICI R. Neonatal anoxia induces transitory hyperactivity, permanent spatial memory deficits and CA1 cell density reduction in developing rats. *Behavioural brain research*; 45(2): 125-34, 1991

58. DELL'ANNA ME, LUTHMAN J, LINDQVIST E, OLSON L: Development of monoamine systems after neonatal anoxia in rats. *Brain research bulletin*, 32.2: 159-170, 1993
59. DELL'ANNA ME, GELOSO MC, DRAISCI G, LUTHMAN J. Transient changes in Fos and GFAP immunoreactivity precede neuronal loss in the rat hippocampus following neonatal anoxia. *Experimental neurology*; 131(1): 144-56, 1995
60. DELLA GROTTA S, LAGASSE LL, ARRIA AM, DERAUF C, GRANT P, SMITH LM, SHAH R, HUESTIS M, LIU J, LESTER BM. Patterns of methamphetamine use during pregnancy: results from the Infant Development, Environment, and Lifestyle (IDEAL) Study. *Maternal and child health journal*;14:519-27, 2010
61. DE VILLIERS AS, RUSSELL VA, SAGVOLDEN T, SEARSON A, JAFFER A, TALJAARD JJ: β 2 Mediated inhibition of [3H] dopamine release from nucleus accumbens slices and monoamine levels in a rat model for attention-deficit hyperactivity disorder. *Neurochemical research*, 20.4: 427-433, 1995
62. DELCOUR M, RUSSIER M, AMIN M, BAUD O, PABAN V, BARBE MF, COQ JO: Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. *Behavioural brain research*, 232.1: 233-244, 2012
63. DELOBEL-AYOUB M, ARNAUD C, WHITE-KONING M, CASPER C, PIERRAT V, GAREL M, BURGNET A, ROZE JC, MATIS J, PICAUD JC, KAMINSKI M.

- Behavioral problems and cognitive performance at 5 years of age after very preterm birth: the EPIPAGE Study. *Pediatrics*; 123(6): 1485-92, 2009
64. D'HOOGE R, DE DEYN PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain research reviews*; 36(1): 60-90, 2001
65. DIAMOND A. Rate of maturation of the hippocampus and the developmental progression of children's performance on the delayed non-matching to sample and visual paired comparison tasks. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1990
66. DIAMOND A. Evidence for the importance of dopamine for prefrontal cortex functions early in life. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*; 351(1346):1483-94, 1996
67. DIAZ SD, SMITH LM, LAGASSE LL, DERAUF C, NEWMAN E, SHAH R and LESTER, BM: Effects of prenatal methamphetamine exposure on behavioral and cognitive findings at 7.5 years of age. *The Journal of pediatrics*, 164.6: 1333-1338.2014
68. DIXON SD, ORO AA: Cocaine and Amphetamine Exposure in Neonates-Perinatal Consequences. *Pediatric Research*, 21.4.: A359, 1987
69. DOUGHERTY DD, BONAB AA, SPENCER TJ, RAUCH SL, MADRAS BK, FISCHMAN AJ: Dopamine transporter density in patients with attention deficit hyperactivity disorder. *The Lancet*, 354.9196: 2132-2133, 1999

70. DROLET G, PROULX K, PEARSON D, ROCHFORD J, DESCHEPPER CF. Comparisons of behavioral and neurochemical characteristics between WKY, WKHA, and Wistar rat strains. *Neuropsychopharmacology*; 27(3):400-9, 2002
71. DUBOVICKÝ M, MACH M, BRUCKNEROVÁ I, UJHÁZY E. Effect of perinatal anoxia on exploratory behaviour of rat offspring. *Acta Physiol*; 191(Suppl. 658): 57, 2007
72. DUBROVSKAYA NM and ZHURAVIN IA: Ontogenetic characteristics of behavior in rats subjected to hypoxia on day 14 or day 18 of embryogenesis. *Neuroscience and behavioral physiology*, 40.2: 231-238, 2010
73. DURSTON S, POL HE, SCHNACK HG, BUITELAAR JK, STEENHUIS MP, MINDERAA RB, KAHN RS. Magnetic resonance imaging of boys with attention-deficit/hyperactivity disorder and their unaffected siblings. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*; 43(3): 332-40, 2004
74. ELLIOTT L, LOOMIS D, LOTTRITZ L, SLOTNICK RN, OKI E, TODD R. Case-control study of a gastroschisis cluster in Nevada. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*; 163(11): 1000-6, 2009
75. ELDRIDGE LL, ENGEL SA, ZEINEH MM, BOOKHEIMER SY, KNOWLTON BJ. A dissociation of encoding and retrieval processes in the human hippocampus. *Journal of Neuroscience*; 25(13): 3280-6, 2005

76. ENNACEUR A, NEAVE N and AGGLETON JP: Spontaneous object recognition and object location memory in rats: The effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Exp. Brain Res*, 113-3: 509–519, 1997
77. ERIKSSON M, LARSSON G, ZETTERSTRÖM R. Amphetamine addiction and pregnancy: II. Pregnancy, delivery and the neonatal period. Socio-medical aspects. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*; 60(3): 253-9, 1981
78. ESTALL LB, GRANT SJ, CICALA GA. Inhibition of nitric oxide (NO) production selectively impairs learning and memory in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 46(4): 959-62, 1993
79. EMCDDA: European Monitoring Center for Drugs and Drug Abuse. Annual report 2012: The state of the drug problem in Europe. 2012. Available at <http://www.emcdda.europa.eu> (last accessed November 2012)
80. EUBIG PA, AGUIAR A, SCHANTZ SL. LEAD AND PCBS: Lead and PCBs as risk factors for attention deficit/hyperactivity disorder. *Environmental health perspectives*, 118.12: 1654-1667, 2010
81. FDA: Food and Drug Administration list of drugs 2017
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/005378s030lbl.pdf

82. FERGUSON SA, PAULE MG, HOLSON RR. Functional effects of methylazoxymethanol-induced cerebellar hypoplasia in rats. *Neurotoxicology and teratology*; 18(5): 529-37, 1996
83. FIALOVÁ M, ŠÍROVÁ J, BUBENÍKOVÁ-VALEŠOVÁ V, ŠLAMBEROVÁ R: The effect of prenatal methamphetamine exposure on recognition memory in adult rats. *Prague Med Rep*, 116.1: 31-39, 2015
84. FISCHMAN MW, SCHUSTER CR. Tolerance development to chronic methamphetamine intoxication in the rhesus monkey. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 2(4): 503-8, 1974
85. FITZMAURICE PS, TONG J, YAZDANPANA M, LIU PP, KALASINSKY KS, KISH SJ. Levels of 4-hydroxynonenal and malondialdehyde are increased in brain of human chronic users of methamphetamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 319(2): 703-9, 2006
86. FLAK AL, SU S, BERTRAND J, DENNY CH, KESMODEL US, COGSWELL ME: The association of mild, moderate, and binge prenatal alcohol exposure and child neuropsychological outcomes: a meta-analysis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38.1: 214-226, 2014
87. FLORES G, DE JESÚS GÓMEZ-VILLALOBOS M, RODRÍGUEZ-SOSA L. Prenatal amphetamine exposure effects on dopaminergic receptors and transporter in postnatal rats. *Neurochemical research*; 36: 1740-9, 2011

88. FRAŇKOVÁ S: Drug-induced changes in the maternal behavior of rats
Psychopharmacology, 53.1: 83-87, 1977
89. GETAHUN D, RHOADS GG, DEMISSIE K, LU SE, QUINN VP, FASSETT MJ
and JACOBSEN SJ: In utero exposure to ischemichypoxic conditions and attention-
deficit/hyperactivity disorder. *Pediatrics*, 131-1: e53–e61, 2013
90. GILANI, K. AND MOHTARAM VAFAKHAH. Hypoxia: a review. *Journal of
Paramedical Sciences*, 1.2: 43-60, 2010
91. GILBERTSON R. A J. AND BARRON S: Neonatal ethanol and nicotine exposure
causes locomotor activity changes in preweanling animals. *Pharmacology
Biochemistry and Behavior*, 81.1: 54-64, 2005
92. GILL M, DALY G, HERON S, HAWI Z, FITZGERALD M.: Confirmation of
association between attention deficit hyperactivity disorder and a dopamine transporter
polymorphism. *Molecular psychiatry*, 2.4: 311-313, 1977
93. GIZER IR, FICKS C, WALDMAN ID. Candidate gene studies of ADHD: a meta-
analytic review. *Human genetics*; 126: 51-90, 2009
94. Global SMART programme 2013, Patterns and Trends of Amphetamine-type
Stimulants and other drugs, Challenges for Asia and the Pacific. United Nations on
Drugs and Crime.

95. GLOVER V. Annual research review: prenatal stress and the origins of psychopathology: an evolutionary perspective. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 52.4: 356-367, 2011
96. GOLAN H and HULEIHEL M: The effect of prenatal hypoxia on brain development: short-and long-term consequences demonstrated in rodent models. *Developmental Science*, 9.4: 338-349, 2006
97. GOLAN MH, MANE R, MOLCZADZKI G, ZUCKERMAN M, KAPLAN-LOUSON V, HULEIHEL M, PEREZ-POLO JR. Impaired migration signaling in the hippocampus following prenatal hypoxia. *Neuropharmacology*; 57(5-6):511-22, 2009
98. GOLUB M, COSTA L, CROFTON K, FRANK D, FRIED P, GLADEN B, HENDERSON R, LIEBELT E, LUSSKIN S, MARTY S, ROWLAND A. NTP-CERHR Expert Panel Report on the reproductive and developmental toxicity of amphetamine and methamphetamine. Birth Defects Research Part B: *Developmental and Reproductive Toxicology*; 74(6):471-584, 2005
99. GONZALEZ-HEYDRICH J, HAMODA HM, LUNA L, RAO S, MCCLENDON J, ROTELLA P, WABER D, BOYER K, FARAONE SV, WHITNEY J, GUILD D: Elevated rates of ADHD in mothers of children with comorbid ADHD and epilepsy. *Neuropsychiatry*, 2.5: 385, 2012

100. GOODCHILD JH, DONALDSON M. Methamphetamine abuse and dentistry: a review of the literature and presentation of a clinical case. *Quintessence international*; 38(7), 2007
101. GOODMAN J, MCINTYRE CK. Impaired spatial memory and enhanced habit memory in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Frontiers in pharmacology*; 8:663, 2017
102. GOULD E, WOOLLEY CS, CAMERON HA, DANIELS DC, MCEWEN BS. Adrenal steroids regulate postnatal development of the rat dentate gyrus: II. Effects of glucocorticoids and mineralocorticoids on cell birth. *Journal of Comparative Neurology*; 313(3): 486-93, 1991
103. GRAHAM DM, CROCKER N, DEWEESE BN, ROESCH SC, COLES CD, KABLE JA, MAY PA, KALBERG WO, SOWELL ER, JONES KL, RILEY EP: Prenatal alcohol exposure, attention-deficit/hyperactivity disorder, and sluggish cognitive tempo. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 37: E338-E346, 2013
104. GROBLER SR, CHIKTE U, WESTRAAT J: The pH levels of different methamphetamine drug samples on the street market in Cape Town. *ISRN dentistry 2011* (2011).

105. HALMØY A, KLUNGSØYR K, SKJÆRVEN R, HAAVIK J. "Pre-and perinatal risk factors in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder." *Biological psychiatry*, 71.5: 474-481, 2012
106. HAN DAWN D AND HOWARD H GU: Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC pharmacology*, 6.1: 6, 2006
107. HELLER A, FREENEY A, LEW R, WON L. Fetal exposure to methamphetamine in utero enhances methamphetamine induced release of striatal dopamine in the mouse. *InSoc Neurosci Abstr*, 26: 269, 2000
108. HENDLEY ED, OHLSSON WG. Two new inbred rat strains derived from SHR: WKHA, hyperactive, and WKHT, hypertensive, rats. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*; 261(2): H583-9, 1991
109. HENKE K, WEBER B, KNEIFEL S, WIESER HG, BUCK A. Human hippocampus associates information in memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 96(10): 5884-9, 1999
110. HENRIKSEN T AND CLAUSEN T: The fetal origins hypothesis: placental insufficiency and inheritance versus maternal malnutrition in well-nourished populations. *Acta Obstet Gyn Scan*, 81: 112–114, 2002

111. HERMANS RH, HUNTER DE, MCGIVERN RF, CAIN CD, LONGO LD: Behavioral sequelae in young rats of acute intermittent antenatal hypoxia. *Neurotoxicology and teratology*, 14.2: 119-129, 1992
112. HERRING NR, SCHAEFER TL, GUDELSKY GA, VORHEES CV, WILLIAMS MT. Effect of (+)-methamphetamine on path integration learning, novel object recognition, and neurotoxicity in rats. *Psychopharmacology*; 199: 637-50, 2008
113. HESSLINGER B, VAN ELST LT, THIEL T, HAEGELE K, HENNIG J, EBERT D. Frontoorbital volume reductions in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience letters*; 328(3): 319-21, 2002
114. HILL DE, YEO RA, CAMPBELL RA, HART B, VIGIL J, BROOKS W: Magnetic resonance imaging correlates of attention-deficit/hyperactivity disorder in children. *Neuropsychology*, 17.3: 496, 2003
115. HITZEMANN BA, HITZEMANN RJ, BRASE DA, LOH HH. Influence of prenatal d-amphetamine administration on development and behavior of rats. *Life Sciences*; 18(6): 605-12, 1976
116. HOMER BD, SOLOMON TM, MOELLER RW, MASCIA A, DERALEAU L, HALKITIS PN: Methamphetamine abuse and impairment of social functioning: a review of the underlying neurophysiological causes and behavioral implications. *Psychological bulletin*, 134.2: 301, 2008

117. HRUBÁ L, SCHUTOVÁ B, ŠLAMBEROVÁ R, POMETLOVÁ M: Does cross-fostering modify the impairing effect of methamphetamine on postnatal development of rat pups. *Prague medical report*, 109.1: 50-61, 2008
118. HRUBÁ L, SCHUTOVÁ B, POMETLOVÁ M, ROKYTA R, ŠLAMBEROVÁ R. Effect of methamphetamine exposure and cross-fostering on cognitive function in adult male rats. *Behavioural brain research*; 208(1): 63-71, 2010
119. HUANG Y, ZHOU W, ZHANG Y. Bright lighting conditions during testing increase thigmotaxis and impair water maze performance in BALB/c mice. *Behavioural brain research*; 226(1): 26-31, 2012
120. HYNES MD, LANGER DH, HYMSON DL, PEARSON DV, FULLER RW. Differential effects of selected dopaminergic agents on locomotor activity in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 23(3): 445-8, 1985
121. INFANTE MA, MOORE EM, NGUYEN TT, FOURLIGAS N, MATTSON SN, RILEY EP: Objective assessment of ADHD core symptoms in children with heavy prenatal alcohol exposure. *Physiology & behavior*, 148: 45-50, 2015
122. CHANG L, ERNST T, SPECK O, PATEL H, DESILVA M, LEONIDO-YEE M, MILLER EN. Perfusion MRI and computerized cognitive test abnormalities in abstinent methamphetamine users. *Psychiatry Research: Neuroimaging*; 114(2): 65-79, 2002

123. CHANG L, SMITH LM, LOPRESTI C, YONEKURA ML, KUO J, WALOT I, ERNST T: Smaller subcortical volumes and cognitive deficits in children with prenatal methamphetamine exposure. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, 32.2: 95-106, 2004
124. CHANG L, ALICATA D, ERNST T, VOLKOW N. Structural and metabolic brain changes in the striatum associated with methamphetamine abuse. *Addiction*; 102: 16-32, 2007
125. CHANG L, OISHI K, SKRANES J, BUCHTHAL S, CUNNINGHAM E, YAMAKAWA R, HAYAMA S, JIANG CS, ALICATA D, HERNANDEZ A, CLOAK C. Sex-specific alterations of white matter developmental trajectories in infants with prenatal exposure to methamphetamine and tobacco. *JAMA psychiatry*; 73(12): 1217-27, 2016
126. CHANG JP, GAU SS: Mother-child relationship in youths with attention-deficit hyperactivity disorder and their siblings. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 45.5: 871-882, 2017
127. CHEN CK, LIN SK, SHAM PC, BALL D, LOH EW, HSIAO CC, CHIANG YL, REE SC, LEE CH, MURRAY RM. Pre-morbid characteristics and co-morbidity of methamphetamine users with and without psychosis. *Psychological medicine*; 33(8): 1407-14, 2003

128. CHO DH, LYU HM, LEE HB, KIM PY, CHIN K: Behavioral Teratogenicity of Methamphetamine. *The Journal of toxicological sciences*, 16.I: 37-49, 1991
129. CHO AK, MELEGA WP, KUCZENSKI R and SEGAL DS: Relevance of pharmacokinetic parameters in animal models of methamphetamine abuse. *Synapse*, 39: 161-6, 2001
130. IQBAL W, CIRIELLO J. Effect of maternal chronic intermittent hypoxia during gestation on offspring growth in the rat. *American journal of obstetrics and gynecology*; 209(6): 564-e1, 2013
131. IVERSEN L, GIBBONS S, TREBLE R, SETOLA V, HUANG XP, ROTH BL: Neurochemical profiles of some novel psychoactive substances. *European journal of pharmacology*, 700.1-3: 147-151, 2013
132. JÄNICKE B, COPER H. The effects of prenatal exposure to hypoxia on the behavior of rats during their life span. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 48(4): 863-73, 1994
133. JANUS C. Search strategies used by APP transgenic mice during navigation in the Morris water maze. *Learning & memory*; 11(3): 337-46, 2004
134. KADESJÖ B, GILLBERG C. Developmental coordination disorder in Swedish 7-year-old children. *Annual Progress in Child Psychiatry and Child Development* 2000-2001 (pp. 317-334). Routledge, 2002

135. KALAITZOPOULOS DR, CHATZISTERGIOU K, AMYLIDI AL, KOKKINIDIS DG, GOULIS DG. Effect of methamphetamine hydrochloride on pregnancy outcome: a systematic review and meta-analysis. *Journal of addiction medicine*; 12(3): 220-6, 2018
136. KAMIENSKI L, *Shooting up: A short history of drugs and war*. Oxford University Press, 2016
137. KARCH SB, STEPHENS BG, HO CH. Methamphetamine-related deaths in San Francisco: demographic, pathologic, and toxicologic profiles. *Journal of forensic sciences*; 44: 359-68, 1999
138. KASIRSKY G, TANSY MF. Teratogenic effects of methamphetamine in mice and rabbits. *Teratology*; 4(2): 131-4, 1971
139. KAYE S, MCKETIN R, DUFLOU J, DARKE S. Methamphetamine and cardiovascular pathology: a review of the evidence. *Addiction*; 102(8): 1204-11, 2007
140. KERESZTES A, BENDER AR, BODAMMER NC, LINDENBERGER U, SHING YL, WERKLE-BERGNER M. Hippocampal maturity promotes memory distinctiveness in childhood and adolescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*; 114(34): 9212-7, 2017

141. KESNER RP, GOODRICH-HUNSAKER NJ. Developing an animal model of human amnesia: the role of the hippocampus. *Neuropsychologia*; 48(8): 2290-302, 2010
142. KEVIL CG, GOEDERS NE, WOOLARD MD, BHUIYAN MS, DOMINIC P, KOLLURU GK, ARNOLD CL, TRAYLOR JG, ORR AW: Methamphetamine use and cardiovascular disease: in search of answers. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 39(9): 1739-46, 2019
143. KISH SJ, FITZMAURICE PS, BOILEAU I, SCHMUNK GA, ANG LC, FURUKAWA Y, CHANG LJ, WICKHAM DJ, SHERWIN A, TONG J. Brain serotonin transporter in human methamphetamine users. *Psychopharmacology*; 202(4): 649-61, 2009
144. KITAMURA O, TOKUNAGA I, GOTOHDA T, KUBO SI. Immunohistochemical investigation of dopaminergic terminal markers and caspase-3 activation in the striatum of human methamphetamine users. *International journal of legal medicine*; 121(3): 163-8, 2007
145. KIBLAWI ZN, SMITH LM, LAGASSE LL, DERAUF C, NEWMAN E, SHAH R, ARRIA A, HUESTIS M, DELLAGROTTA S, DANSEREAU LM, NEAL C: The effect of prenatal methamphetamine exposure on attention as assessed by continuous performance tests: Results from the infant development, environment, and lifestyle (IDEAL) study. *Journal of developmental and behavioral pediatrics: JDBP*, 34.1: 31, 2013

146. KNOPIK VS: Commentary: Smoking during pregnancy—genes and environment weigh in. *International journal of epidemiology*, 39.5: 1203-1205, 2010
147. KNOPIK VS: Maternal smoking during pregnancy and child outcomes: real or spurious effect?. *Developmental neuropsychology*, 34.1: 1-36, 2009
148. KNOPIK VS, HEATH AC, JACOB T, SLUTSKE WS, BUCHOLZ KK, MADDEN PA, WALDRON M, MARTIN NG: Maternal alcohol use disorder and offspring ADHD: disentangling genetic and environmental effects using a children-of-twins design. *Psychological medicine*, 36.10: 1461-1472, 2006
149. KOZIELEC T AND STAROBRAT-HERMELIN B: Assessment of magnesium levels in children with attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Magnesium Research*, 10.2: 143-148, 1997
150. KRAUSE KH, DRESEL SH, KRAUSE J, KUNG HF, TATSCH K. Increased striatal dopamine transporter in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder: effects of methylphenidate as measured by single photon emission computed tomography. *Neuroscience letters*; 285(2): 107-110, 2000
151. KWIATKOWSKI MA, ROOS A, STEIN DJ, THOMAS KG, DONALD K: Effects of prenatal methamphetamine exposure: a review of cognitive and neuroimaging studies. *Metabolic brain disease*, 29.2: 245-254, 2014

152. KWIATKOWSKI MA, DONALD KA, STEIN DJ, IPSER J, THOMAS KG, ROOS A. Cognitive outcomes in prenatal methamphetamine exposed children aged six to seven years. *Comprehensive psychiatry*; 80: 24-33, 2018
153. LACZÓ J, MARKOVA H, LOBELLOVA V, GAZOVA I, PARIZKOVA M, CERMAN J, NEKOVAROVA T, VALES K, KLOVRZOVA S, HARRISON J, WINDISCH M. Scopolamine disrupts place navigation in rats and humans: a translational validation of the Hidden Goal Task in the Morris water maze and a real maze for humans. *Psychopharmacology*, 234: 535-47, 2017
154. LAGASSE LL, DERAUF C, SMITH LM, NEWMAN E, SHAH R, NEAL C, ARRIA A, HUESTIS MA, DELLAGROTTA S, LIN H, DANSEREAU LM: Prenatal methamphetamine exposure and childhood behavior problems at 3 and 5 years of age. *Pediatrics*, 129.4: 681-688, 2012
155. LAMBERT BL AND CR BAUER: Developmental and behavioral consequences of prenatal cocaine exposure: a review. *Journal of Perinatology*, 32.11: 819-828, 2012
156. LAN KC, LIN YF, YU FC, LIN CS, CHU P. Clinical manifestations and prognostic features of acute methamphetamine intoxication. *Journal of the Formosan Medical Association*; 97(8): 528-33, 1998
157. LAVENEX P, LAVENEX PB, AMARAL DG. Postnatal development of the primate hippocampal formation. *Developmental neuroscience*; 29(1-2): 179-92, 2007

158. LEO D, GAINETDINOV RR. Transgenic mouse models for ADHD. *Cell and tissue research*; 354: 259-71, 2013
159. LI L, EVERHART T, JACOB III P, JONES R, MENDELSON J. Stereoselectivity in the human metabolism of methamphetamine. *British journal of clinical pharmacology*; 69(2): 187-92, 2010
160. LIU D, DIORIO J, DAY JC, FRANCIS DD, MEANEY MJ. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature neuroscience*; 3(8): 799-806, 2000
161. LIU ZH, YANG G, ZHAO T, CAO GJ, XIONG L, XIA W, HUANG X, WU LY, WU K, FAN M, SHAO NS. Small ncRNA expression and regulation under hypoxia in neural progenitor cells. *Cellular and molecular neurobiology*; 31:1-5, 2011
162. LIU SW, LIEN MH, FENSKE NA. The effects of alcohol and drug abuse on the skin. *Clinics in dermatology*; 28(4): 391-9, 2010
163. LOU HC, HENRIKSEN L, BRUHN P, BØRNER H, NIELSEN JB: Striatal dysfunction in attention deficit and hyperkinetic disorder. *Archives of Neurology*, 46.1: 48-52, 1989
164. LOU HC: Etiology and pathogenesis of Attention-deficit Hyperactivity Disorder (ADHD): Significance of prematurity and perinatal hypoxic-haemodynamic encephalopathy. *Acta Paediatrica* 85.11: 1266-1271, 1996

165. LUDLOW JP, EVANS SF, HULSE G. Obstetric and perinatal outcomes in pregnancies associated with illicit substance abuse. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*; 44(4): 302-6, 2004
166. LUO Y, WEIBMAN D, HALPERIN JM, LI X: A review of heterogeneity in attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD). *Frontiers in human neuroscience*, 42: 2019
167. MACCARI S, POLESE D, REYNAERT ML, AMICI T, MORLEY-FLETCHER S, FAGIOLI F: Early-life experiences and the development of adult diseases with a focus on mental illness: the human birth theory. *Neuroscience*, 342: 232-251, 2017
168. MACÚCHOVÁ E, NOHEJLOVÁ-DEYKUN K, ŠLAMBEROVÁ R. Effect of methamphetamine on cognitive functions of adult female rats prenatally exposed to the same drug. *Physiological Research*. 62 (Suppl. 1): S89-S98, 2013
169. MACÚCHOVÁ E, NOHEJLOVÁ K, ŠEVČÍKOVÁ M, HREBÍČKOVÁ I, ŠLAMBEROVÁ R. Sex differences in the strategies of spatial learning in prenatally-exposed rats treated with various drugs in adulthood. *Behavioural Brain Research*: 327: 83-93, 2017

170. MAGUIRE EA, BURGESS N, DONNETT JG, FRACKOWIAK RS, FRITH CD, O'KEEFE J. Knowing where and getting there: a human navigation network. *Science*; 280(5365): 921-4, 1998
171. MAIER S, VAN ELST LT, BEIER D, EBERT D, FANGMEIER T, RADTKE M, PERLOV E, RIEDEL A. Increased hippocampal volumes in adults with high functioning autism spectrum disorder and an IQ > 100: A manual morphometric study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*; 234(1): 152-5, 2015
172. MALÁ E: Pharmacotherapy ADHD, Dostupné online: <http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/farmakoterapie-adhd-462916>
173. MALINOVÁ-ŠEVČÍKOVÁ M, HREBÍČKOVÁ I, MACÚCHOVÁ E, NOVÁ E, POMETLOVÁ M, ŠLAMBEROVÁ R. Differences in maternal behavior and development of their pups depend on the time of methamphetamine exposure during gestation period. *Physiological Research*, 63, Suppl. 4: S559-S572, 2014
174. MARESOVA D, VALKOUNOVÁ I, JANDOVÁ K, BORTELOVÁ J, TROJAN S: Excitability changes of cortical neurons during the postnatal period in rats exposed to prenatal hypobaric hypoxia. *Physiological Research*, 50.2: 215-219, 2001
175. MARANELLA E, MARERI A, NARDI V, DI NATALE C, DI LUCA L, CONTE E, PANNONE V, CATALUCCI A, DI FABIO S. Severe neurologic and hepatic toxicity in a newborn prenatally exposed to methamphetamine. A case report. *Brain and Development*; 41(2): 191-4, 2019

176. MARWICK C: NIDA seeking data on effect of fetal exposure to methamphetamine. *Jama*; 283(17): 2225-6, 2000
177. MATĚJOVSKÁ I, BERNÁŠKOVÁ K, ŠLAMBEROVÁ R: Effect of prenatal methamphetamine exposure and challenge dose of the same drug in adulthood on epileptiform activity induced by electrical stimulation in female rats. *Neuroscience* 257: 130-138, 2014
178. MAYA-ENERO S, CANDEL-PAU J, REBOLLO-POLO M, CANDELA-CANTÓ S, DE LA TORRE R, LÓPEZ-VÍLCHEZ MÁ. Central nervous system malformation associated with methamphetamine abuse during pregnancy. *Clinical Toxicology*; 56(8): 795-7, 2018
179. MCCANN UD, WONG DF, YOKOI F, VILLEMAGNE V, DANNALS RF, RICAURTE GA. Reduced striatal dopamine transporter density in abstinent methamphetamine and methcathinone users: evidence from positron emission tomography studies with [11C] WIN-35,428. *Journal of Neuroscience* 15; 18(20): 8417-22, 1998
180. MCCANN UD, KUWABARA H, KUMAR A, PALERMO M, ABBEY R, BRASIC J, YE W, ALEXANDER M, DANNALS RF, WONG DF, RICAURTE GA. Persistent cognitive and dopamine transporter deficits in abstinent methamphetamine users. *Synapse*; 62(2): 91-100, 2008

181. MCCARTY R, CHIUEH CC, KOPIN IJ. Differential behavioral responses of spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive (WKY) rats to d-amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 12(1): 53-9, 1980
182. MCGREGOR C, SRISURAPANONT M, JITTIWUTIKARN J, LAOBHRIPATR S, WONGTAN T, WHITE JM. The nature, time course and severity of methamphetamine withdrawal. *Addiction*; 100(9):1320-9, 2005
183. MCKETIN R, LUBMAN DI, NAJMAN JM, DAWE S, BUTTERWORTH P, BAKER AL: Does methamphetamine use increase violent behaviour? Evidence from a prospective longitudinal study. *Addiction*, 109.5: 798-806, 2014
184. MCNAUGHTON BL, BARNES CA, GERRARD JL, GOTHARD K, JUNG MW, KNIERIM JJ, KUDRIMOTI H, QIN Y, SKAGGS WE, SUSTER M, WEAVER KL. Deciphering the hippocampal polyglot: the hippocampus as a path integration system. *Journal of Experimental Biology*; 199(1): 173-85, 1996
185. MEDIN T, MEDIN H, HEFTE MB, STORM-MATHISEN J, BERGERSEN LH: Upregulation of the lactate transporter monocarboxylate transporter 1 at the blood-brain barrier in a rat model of attention-deficit/hyperactivity disorder suggests hyperactivity could be a form of self-treatment. *Behav Brain Res*, 360: 279-285, 2019
186. MEREDITH CW, JAFFE C, ANG-LEE K, SAXON AJ. Implications of chronic methamphetamine use: a literature review. *Harvard review of psychiatry*; 13(3): 141-54, 2005

187. METZ TD, GORDON AJ. Stimulant use in pregnancy—An under-recognized epidemic among pregnant women. *Clinical obstetrics and gynecology*; 62(1): 168, 2019
188. MIDDAUGH LD, BLACKWELL LA, SANTOS III CA, ZEMP JW. Effects of d-amphetamine sulfate given to pregnant mice on activity and on catecholamines in the brains of offspring. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*; 7(5): 429-38, 1974
189. MICK E, BIEDERMAN J, FARAONE SV, SAYER J, KLEINMAN S: Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 41.4: 378-385, 2002
190. MIGUEL PM, SCHUCH CP, ROJAS JJ, CARLETTI JV, DECKMANN I, MARTINATO LH, PIRES AV, BIZARRO L, PEREIRA LO. Neonatal hypoxia-ischemia induces attention-deficit hyperactivity disorder-like behavior in rats. *Behavioral neuroscience*; 129(3): 309, 2015
191. MISENER VL, LUCA P, AZEKE O, CROSBIE J, WALDMAN I, TANNOCK R, ROBERTS W, MALONE M, SCHACHAR R, ICKOWICZ A, KENNEDY JL. Linkage of the dopamine receptor D1 gene to attention-deficit/hyperactivity disorder. *Molecular psychiatry*; 9(5): 500-9, 2004

192. MODIR F, SALMANI ME, GOUDARZI I, LASHKARBOLUKI T, ABRARI K. Prenatal stress decreases spatial learning and memory retrieval of the adult male offspring of rats. *Physiology & behavior*; 129: 104-9, 2014
193. MONDER H. Effects of prenatal amphetamine exposure on the development of behavior in rats. *Psychopharmacology*; 75: 75-8, 1981
194. MORRIS RG, GARRUD P, RAWLINS JA, O'KEEFE J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*; 297(5868): 681-3, 1982
195. MOSZCZYNSKA A, FITZMAURICE P, ANG L, KALASINSKY KS, SCHMUNK GA, PERETTI FJ, AIKEN SS, Wickham DJ, Kish SJ. Why is parkinsonism not a feature of human methamphetamine users? *Brain*; 127(2): 363-70, 2004a
196. MOSZCZYNSKA A, FITZMAURICE P, ANG L, KALASINSKY KS, PERETTI FJ, AIKEN SS, WICKHAM DJ, SHERWIN A, NOBREGA JN, FORMAN HJ, KISH SJ. Brain antioxidant systems in human methamphetamine users. *Journal of neurochemistry*; 89(6): 1396-408, 2004b
197. MORAN-GATES T, ZHANG K, BALDESSARINI RJ, TARAZI FI. Atomoxetine blocks motor hyperactivity in neonatal 6-hydroxydopamine-lesioned rats: implications for treatment of attention-deficit hyperactivity disorder. *International Journal of Neuropsychopharmacology*; 8(3): 439-44, 2005

198. MOSER MB, MOSER EI, WULTZ B, SAGVOLDEN T: Component analyses differentiate between exploratory behaviour of spontaneously hypertensive rats and Wistar Kyoto rats in a two-compartment free-exploration open field. *Scandinavian journal of psychology*, 29.3-4: 200-206, 1988
199. MRAVČÍK V, VOREL F, ZÁBRANSKÝ T: Drugs and fatal traffic accidents in the Czech Republic. *Central European journal of public health*, 15.4, 2007
200. MRAVČÍK, V. et al. (2016). Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2015. Praha: Úřad vlády ČR.
201. MRAVČÍK, V. et al. (2019). Výroční zpráva o stavu ve věcech drog v České republice v roce 2019. Praha: Úřad vlády ČR.
202. MURRAY JB. Psychophysiological aspects of amphetamine-methamphetamine abuse. *The Journal of psychology*; 132(2): 227-37, 1998
203. MYSLIVEČEK J, HASSMANNOVÁ J, BARCAL J, SAFANDA J, ŽALUD V. Inhibitory learning and memory in newborn rats influenced by nitric oxide. *Neuroscience*; 71(2): 299-312, 1996
204. NALIVAEVA NN, FISK L, AVILES RM, PLESNEVA SA, ZHURAVIN IA, TURNER AJ. Effects of prenatal hypoxia on expression of amyloid precursor protein and metallopeptidases in the rat brain. *Letters in Peptide Science*; 10: 455-62, 2003

205. NALIVAEVA, NN., ANTHONY J. TURNER, AND IGOR A. ZHURAVIN: Role of prenatal hypoxia in brain development, cognitive functions, and neurodegeneration. *Frontiers in neuroscience*: 825, 2018
206. NEVE KA, NEVE RL. Molecular biology of dopamine receptors. *The dopamine receptors*: 27-76, 1997
207. OHNO M. The dopaminergic system in attention deficit/hyperactivity disorder. *Congenital anomalies*; 43(2): 114-22, 2003
208. OORSCHOT DE, VOSS L, COVEY MV, BILKEY DK, SAUNDERS SE: ADHD-like hyperactivity, with no attention deficit, in adult rats after repeated hypoxia during the equivalent of extreme prematurity. *Journal of neuroscience methods*, 166.2: 315-322, 2007
209. PAGIDA MA, KONSTANTINIDOU AE, TSEKOURA E, MANGOURA D, PATSOURIS E and PANAYOTACOPOULOU MT: Vulnerability of the mesencephalic dopaminergic neurons of the human neonate to prolonged perinatal hypoxia: an immunohistochemical study of tyrosine hydroxylase expression in autopsy material. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 72.4: 337-350, 2013
210. PAGIDA MA, KONSTANTINIDOU AE, KORELIDOU A, KATSIKA D, TSEKOURA E, PATSOURIS E and PANAYOTACOPOULOU MT: The effect of perinatal hypoxic/ischemic injury on tyrosine hydroxylase expression in the locus coeruleus of the human neonate. *Developmental neuroscience*, 38.1: 41-53, 2016

211. PANENKA WJ, PROCYSHYN RM, LECOMTE T, MACEWAN GW, FLYNN SW, HONER WG, BARR AM: Methamphetamine use: a comprehensive review of molecular, preclinical and clinical findings. *Drug and alcohol dependence* 129.3: 167-179, 2013
212. PAPA M, SERGEANT JA and SADILE AG: Reduced transduction mechanisms in the anterior accumbal interface of an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behavioural brain research*, 94.1: 187-195, 1998
213. PAUS T, KESHAVAN M, GIEDD JN. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence? *Nature reviews neuroscience*; 9(12): 947-57, 2008
214. PENNAY AE, LEE NK. Putting the call out for more research: the poor evidence base for treating methamphetamine withdrawal. *Drug and alcohol review*; 30(2): 216-22, 2011
215. PEREZ FA, BLYTHE S, WOULDDES T, MCNAMARA K, BLACK KI, OEI JL. Prenatal methamphetamine—impact on the mother and child—a review. *Addiction*. 2022
216. PERLOV E, PHILIPSEN A, VAN ELST LT, EBERT D, HENNING J, MAIER S, BUBL E, HESSLINGER B. Hippocampus and amygdala morphology in adults with attention-deficit hyperactivity disorder. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*; 33(6): 509-15, 2008

217. PERSSON AI, NAYLOR AS, JONSDOTTIR IH, NYBERG F, ERIKSSON PS, THORLIN T: Differential regulation of hippocampal progenitor proliferation by opioid receptor antagonists in running and non-running spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Neuroscience*, 19(7): 1847-55, 2004
218. PHUPONG V, DAROJN D. Amphetamine abuse in pregnancy: the impact on obstetric outcome. *Archives of gynecology and obstetrics*; 276(2): 167-70, 2007
219. PIEŠOVÁ M, KOPRDOVA R, UJHAZY E, KRŠKOVÁ L, OLEXOVA L, MOROVA M, SENKO T, MOJMÍR MA. Impact of prenatal hypoxia on the development and behavior of the rat offspring. *Physiological Research*; 69 (Suppl 4): S649, 2020
220. PIJNENBURG AJ, HONIG WM, VAN DER HEYDEN JA, VAN ROSSUM JM. Effects of chemical stimulation of the mesolimbic dopamine system upon locomotor activity. *European journal of pharmacology*; 35(1): 45-58, 1976
221. PLESSEN KJ, BANSAL R, ZHU H, WHITEMAN R, AMAT J, QUACKENBUSH GA, MARTIN L, DURKIN K, BLAIR C, ROYAL J, HUGDAHL K. Hippocampus and amygdala morphology in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Archives of general psychiatry*; 63(7): 795-807, 2006

222. PLESSINGER MA: Prenatal exposure to amphetamines: risks and adverse outcomes in pregnancy. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 25.1: 119-138, 1998
223. POPOVA S, LANGE S, SHIELD K, MIHIC A, CHUDLEY AE, MUKHERJEE RA, BEKMURADOV D, REHM J: Comorbidity of fetal alcohol spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 387.10022: 978-987, 2016
224. PŘÍHODOVÁ I: Porucha pozornosti s hyperaktivitou (attention deficit/hyperactivity disorder – ADHD), Dostupné online: http://www.csmn.eu/ceska-slovenska-neurologie-clanek/porucha-pozornosti-s-hyperaktivitou-attention-deficit-hyperactivity-disorder-adhd-35776?confirm_rules=1
225. PUJOL N, PENADÉS R, JUNQUÉ C, DINOVI I, FU CH, CATALÁN R, IBARRETXE-BILBAO N, BARGALLÓ N, BERNARDO M, TOGA A, HOWARD RJ. Hippocampal abnormalities and age in chronic schizophrenia: morphometric study across the adult lifespan. *The British Journal of Psychiatry*; 205(5): 369-75, 2014
226. QUINTON MS, YAMAMOTO BK. Causes and consequences of methamphetamine and MDMA toxicity. *The AAPS journal*; 8:E337-E347, 2006
227. RAKIC P, NOWAKOWSKI RS. The time of origin of neurons in the hippocampal region of the rhesus monkey. *Journal of Comparative Neurology*; 196(1): 99-128, 1981

228. RAMBOUSEK L, KACER P, SYSLOVA K, BUMBA J, BUBENIKOVA-VALESOVA V, SLAMBEROVA R: Sex differences in methamphetamine pharmacokinetics in adult rats and its transfer to pups through the placental membrane and breast milk. *Drug and alcohol dependence*, 139: 138-144, 2014
229. RASMUSSEN N: *On speed: The many lives of amphetamine*. NYU Press, 2008
230. REALE L, BARTOLI B, CARTABIA M, ZANETTI M, COSTANTINO MA, CANEVINI MP, TERMINE C, BONATI M: Comorbidity prevalence and treatment outcome in children and adolescents with ADHD. *European child & adolescent psychiatry*, 26.12: 1443-1457, 2017
231. RHODES J, HOSACK G, GIRARD I, KELLEY A, MITCHELL G, GARLAND T. Differential sensitivity to acute administration of cocaine, GBR 12909, and fluoxetine in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. *Psychopharmacology*; 158: 120-31, 2001
232. RHODES JS, GARLAND T. Differential sensitivity to acute administration of Ritalin, apomorphine, SCH 23390, but not raclopride in mice selectively bred for hyperactive wheel-running behavior. *Psychopharmacology*; 167: 242-50, 2003
233. RIDDLE EL, KOKOSHKA JM, WILKINS DG, HANSON GR, FLECKENSTEIN AE. Tolerance to the neurotoxic effects of methamphetamine in young rats. *European journal of pharmacology*; 435(2-3): 181-5m 2002

234. RIDDLE EL, FLECKENSTEIN AE, HANSON GR. Mechanisms of methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity. *The AAPS journal*, (2): E413-8, 2006
235. ROBB JA, SIBLEY MH, PELHAM WE, MICHAEL FOSTER E, MOLINA BS, GNAGY EM, KURIYAN AB: The estimated annual cost of ADHD to the US education system. *School mental health*, 3:169-177, 2011
236. ROBERTS JR., DAWLEY HE AND REIGART JR: Children's low-level pesticide exposure and associations with autism and ADHD: A review. *Pediatric Research*, 85.2: 234-241, 2019
237. ROBINSON TE AND BECKER JB: Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain research reviews*, 11.2: 157-198, 1986
238. ROBINSON S, CORBETT CJ, WINER JL, CHAN LA, MAXWELL JR, ANSTINE CV and JANTZIE LL. Neonatal erythropoietin mitigates impaired gait, social interaction and diffusion tensor imaging abnormalities in a rat model of prenatal brain injury. *Experimental neurology*, 302:1-13, 2018
239. RONALD A, PENNELL CE AND WHITEHOUSE AJO: Prenatal maternal stress associated with ADHD and autistic traits in early childhood. *Frontiers in psychology*, 1: 223, 2011

240. ROOS A, KWIATKOWSKI MA, FOCHE JP, NARR KL, THOMAS KG, STEIN DJ, DONALD KA. White matter integrity and cognitive performance in children with prenatal methamphetamine exposure. *Behavioural brain research*; 279: 62-7, 2015
241. ROSE SA, FELDMAN JF, JANKOWSKI JJ, VAN ROSSEM R. The structure of memory in infants and toddlers: An SEM study with full-terms and preterms. *Developmental Science*; 14(1): 83-91, 2011
242. ROUSSOTTE FF, RUDIE JD, SMITH L, O'CONNOR MJ, BOOKHEIMER SY, NARR KL, SOWELL ER: Frontostriatal connectivity in children during working memory and the effects of prenatal methamphetamine, alcohol, and polydrug exposure. *Developmental neuroscience*, 34.1: 43-57, 2012
243. RUSSELL V, DE VILLIERS A, SAGVOLDEN T, LAMM M, TALJAARD J: Altered dopaminergic function in the prefrontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen of an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder—the spontaneously hypertensive rat. *Brain research*, 676.2: 343-351, 1995
244. RUSSELL V, DE VILLIERS A, SAGVOLDEN T, LAMM M, TALJAARD J. Differences between electrically-, ritalin-and D-amphetamine-stimulated release of [3H] dopamine from brain slices suggest impaired vesicular storage of dopamine in an animal model of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Behavioural brain research*; 94(1): 163-71, 1998

245. RUSSELL VA: The nucleus accumbens motor-limbic interface of the spontaneously hypertensive rat as studied in vitro by the superfusion slice technique. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24.1: 133-136, 2000
246. RUSSELL VA. Overview of animal models of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Current protocols in neuroscience*; 54(1): 9-35, 2011
247. SAB IM, FERRAZ MMD, AMARAL TAS, RESENDE AC, FERRAZ MR, MATSUURA C and MENDES-RIBEIRO AC: Prenatal hypoxia, habituation memory and oxidative stress. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 107: 24-28, 2013
248. SADILE AG, LAMBERTI C, SIEGFRIED B, WELZL H. Circadian activity, nociceptive thresholds, nigrostriatal and mesolimbic dopaminergic activity in the Naples High-and Low-Excitability rat lines. *Behavioural brain research*; 55(1): 17-27, 1993
249. SAGVOLDEN T, HENDLEY ED, KNARDAHL S. Behavior of hypertensive and hyperactive rat strains: Hyperactivity is not unitarily determined. *Physiology & Behavior*; 52(1): 49-57, 1992
250. SAGVOLDEN T: Behavioral validation of the spontaneously hypertensive rat (SHR) as an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder (AD/HD). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24.1: 31-39, 2000
251. SAGVOLDEN T, JOHANSEN EB, WØIEN G, WALAAS SI, STORM-MATHISEN J, BERGERSEN LH, HVALBY Ø, JENSEN V, AASE H, RUSSELL

- VA, KILLEEN PR. The spontaneously hypertensive rat model of ADHD—the importance of selecting the appropriate reference strain. *Neuropharmacology*; 57(7-8): 619-26, 2009
252. SAGVOLDEN T, JOHANSEN EB: Rat models of ADHD. *Behavioral neuroscience of attention deficit hyperactivity disorder and its treatment*, 301-315, 2012
253. SATO M, FUJIWARA Y. Behavioral and neurochemical changes in pups prenatally exposed to methamphetamine. *Brain and Development*; 8(4): 390-6, 1986
254. SCIBERRAS E, MULRANEY M, SILVA D, COGHILL D: Prenatal risk factors and the etiology of ADHD—review of existing evidence. *Current psychiatry reports*, 19.1: 1-8, 2017
255. SCOTT JC, WOODS SP, MATT GE, MEYER RA, HEATON RK, ATKINSON JH, GRANT I. Neurocognitive effects of methamphetamine: a critical review and meta-analysis. *Neuropsychology review*; 17(3): 275-97, 2007
256. SEIDMAN LJ, VALERA EM, MAKRIS N, MONUTEAUX MC, BORIEL DL, KELKAR K, KENNEDY DN, CAVINESS VS, BUSH G, ALEARDI M, FARAONE SV. Dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex volumetric abnormalities in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder identified by magnetic resonance imaging. *Biological psychiatry*; 60(10): 1071-80, 2006

257. SEKINE Y, IYO M, OUCHI Y, MATSUNAGA T, TSUKADA H, OKADA H, YOSHIKAWA E, FUTATSUBASHI M, TAKEI N, MORI N. Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *American Journal of Psychiatry*; 158(8): 1206-14, 2001
258. SEKINE Y, MINABE Y, KAWAI M, SUZUKI K, IYO M, ISODA H, SAKAHARA H, ASHBY CR, TAKEI N, MORI N. Metabolite alterations in basal ganglia associated with methamphetamine-related psychiatric symptoms: a proton MRS study. *Neuropsychopharmacology*, (3): 453-61, 2002
259. SEKINE Y, MINABE Y, OUCHI Y, TAKEI N, IYO M, NAKAMURA K, SUZUKI K, TSUKADA H, OKADA H, YOSHIKAWA E, FUTATSUBASHI M. Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *American Journal of Psychiatry*; 160(9): 1699-701, 2003
260. SEKINE Y, OUCHI Y, TAKEI N, YOSHIKAWA E, NAKAMURA K, FUTATSUBASHI M, OKADA H, MINABE Y, SUZUKI K, IWATA Y, TSUCHIYA KJ. Brain serotonin transporter density and aggression in abstinent methamphetamine abusers. *Archives of general psychiatry*; 63(1): 90-100, 2006
261. SEKINE Y, OUCHI Y, SUGIHARA G, TAKEI N, YOSHIKAWA E, NAKAMURA K, IWATA Y, TSUCHIYA KJ, SUDA S, SUZUKI K, KAWAI M. Methamphetamine causes microglial activation in the brains of human abusers. *Journal of Neuroscience*; 28(22): 5756-61, 2008

262. SEMPLE SJ, GRANT I, PATTERSON TL. Female methamphetamine users: social characteristics and sexual risk behavior. *Women & health*; 40(3): 35-50, 2005
263. SEMPLE SJ, ZIANS J, GRANT I, PATTERSON TL. Sexual risk behavior of HIV-positive methamphetamine-using men who have sex with men: the role of partner serostatus and partner type. *Archives of sexual behavior*; 35(4): 461-71, 2006
264. SHAH R, DIAZ SD, ARRIA A, LAGASSE LL, DERAUF C, NEWMAN E, SMITH LM, HUESTIS MA, HANING W, STRAUSS A, DELLA GROTTA S. Prenatal methamphetamine exposure and short-term maternal and infant medical outcomes. *American Journal of Perinatology*; 29(05): 391-400, 2012
265. SHAYWITZ BA, YAGER RD, KLOPPER JH. Selective brain dopamine depletion in developing rats: an experimental model of minimal brain dysfunction. *Science*; 191(4224): 305-8, 1976
266. SHAYWITZ BA, KLOPPER JH, GORDON JW. Methylphenidate in 6-hydroxydopamine-treated developing rat pups: Effects on activity and maze performance. *Archives of Neurology*; 35(7): 463-9, 1978
267. SHETTY V, MOONEY LJ, ZIGLER CM, BELIN TR, MURPHY D, RAWSON R. The relationship between methamphetamine use and increased dental disease. *The Journal of the American Dental Association*; 141(3): 307-18, 2010

268. SHIMOMURA C, OHTA H. Behavioral abnormalities and seizure susceptibility in rat after neonatal anoxia. *Brain and Development*; 10(3): 160-3, 1988
269. SHOPTAW S, REBACK CJ. Methamphetamine use and infectious disease-related behaviors in men who have sex with men: implications for interventions. *Addiction*; 102: 130-5, 2007
270. SILK T, VANCE A, RINEHART N, EGAN G, O'BOYLE M, BRADSHAW JL, CUNNINGTON R. Fronto-parietal activation in attention-deficit hyperactivity disorder, combined type: functional magnetic resonance imaging study. *The British Journal of Psychiatry*, 187.3: 282-283, 2005
271. SILVER IA, ERECIŃSKA M. Intracellular and extracellular changes of $[Ca^{2+}]$ in hypoxia and ischemia in rat brain in vivo. *The Journal of general physiology*; 95(5): 837-66, 1990
272. SCHUTOVÁ B, HRUBÁ L, POMETLOVÁ M, DEYKUN K, ŠLAMBEROVÁ R. Impact of methamphetamine administered prenatally and in adulthood on cognitive functions of male rats tested in Morris water maze. *Prague Med Rep*; 109(1): 62-70, 2008
273. SCHUTOVÁ B, HRUBÁ L, POMETLOVÁ M, ŠLAMBEROVÁ R. Impact of prenatal and acute methamphetamine exposure on behaviour of adult male rats. *Prague Med Rep*; 110(1): 67-78, 2009

274. SCHUTOVÁ B, HRUBÁ L, POMETLOVÁ M, ROKYTA R, ŠLAMBEROVÁ R. Responsiveness to methamphetamine in adulthood is altered by prenatal exposure in rats. *Physiology & behavior*; 99(3): 381-7, 2010
275. SCHUTOVÁ B, HRUBÁ L, ROKYTA R AND ŠLAMBEROVÁ R: Gender differences in behavioral changes elicited by prenatal methamphetamine exposure and application of the same drug in adulthood. *Developmental psychobiology*, 55(3): 232-42, 2013
276. SCHERES A, DIJKSTRA M, AINSLIE E, BALKAN J, REYNOLDS B, SONUGA-BARKE E, CASTELLANOS FX: Temporal and probabilistic discounting of rewards in children and adolescents: effects of age and ADHD symptoms. *Neuropsychologia*, 44.11: 2092-2103, 2006
277. SMIDTS DP AND OOSTERLAAN J: How common are symptoms of ADHD in typically developing preschoolers? A study on prevalence rates and prenatal/demographic risk factors. *Cortex*, 43.6: 710-717, 2007
278. SMITH LM, CHANG L, YONEKURA ML, GROB C, OSBORN D, ERNST T: Brain proton magnetic resonance spectroscopy in children exposed to methamphetamine in utero. *Neurology*; 57(2): 255-60, 2001
279. SMITH LM, LAGASSE LL, DERAUF C, GRANT P, SHAH R, ARRIA A, HUESTIS M, HANING W, STRAUSS A, GROTTA SD, LIU J. The infant development, environment, and lifestyle study: effects of prenatal methamphetamine

- exposure, polydrug exposure, and poverty on intrauterine growth. *Pediatrics*; 118(3): 1149-56, 2006
280. SMITH LM, DIAZ S, LAGASSE LL, WOULDES T, DERAUF C, NEWMAN E, ARRIA A, HUESTIS MA, HANING W, STRAUSS A, DELLA GROTTA S. Developmental and behavioral consequences of prenatal methamphetamine exposure: A review of the Infant Development, Environment, and Lifestyle (IDEAL) study. *Neurotoxicology and Teratology*; 51: 35-44, 2015
281. SMITH TF, SCHMIDT-KASTNER R, MCGEARY JE, KACZOROWSKI JA, KNOPIK VS: Pre-and perinatal ischemia-hypoxia, the ischemia-hypoxia response pathway, and ADHD risk. *Behavior genetics*, 46.3: 467-477, 2016
282. SONUGA-BARKE EJ, TAYLOR E, SEMBI S, SMITH J. Hyperactivity and delay aversion—I. The effect of delay on choice. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*; 33(2): 387-98, 1992
283. SONUGA-BARKE EJ. Causal models of attention-deficit/hyperactivity disorder: from common simple deficits to multiple developmental pathways. *Biological psychiatry*; 57(11): 1231-8, 2005
284. SONTAG TA, TUCHA O, WALITZA S, LANGE KW: Animal models of attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD): a critical review. *ADHD Attention Deficit and Hyperactivity Disorders*, 2.1: 1-20, 2010

285. SPAHIS S, VANASSE M, BÉLANGER SA, GHADIRIAN P, GRENIER E, LEVY E: Lipid profile, fatty acid composition and pro-and anti-oxidant status in pediatric patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 79.1-2: 47-53, 2008
286. SPEISER Z, KORCZYN AD, TEPLITZKY I, GITTER S. Hyperactivity in rats following postnatal anoxia. *Behavioural brain research*; 7(3): 379-82, 1983
287. SPRAGUE JE, PRESTON AS, LEIFHEIT M, WOODSIDE B. Hippocampal serotonergic damage induced by MDMA (ecstasy): effects on spatial learning. *Physiology & behavior*; 79(2): 281-7, 2003
288. STALL R, PAUL JP, GREENWOOD G, POLLACK LM, BEIN E, CROSBY GM, MILLS TC, BINSON D, COATES TJ, CATANIA JA. Alcohol use, drug use and alcohol-related problems among men who have sex with men: the Urban Men's Health Study. *Addiction*; 96(11): 1589-601, 2001
289. STEPHANS, S.E. AND YAMAMOTO, B.K. Methamphetamine-induced neurotoxicity: Roles for glutamate and dopamine efflux. *Synapse*, 17(3), pp.203-209, 1994
290. SULZER D, SONNERS MS, POULSEN NW and GALLI A: Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: a review. *Prog Neurobiol*, 75: 406-33, 2005

291. SUNDQUIST J, SUNDQUIST K AND JIANGUANG JI: Autism and attention-deficit/hyperactivity disorder among individuals with a family history of alcohol use disorders. *Elife*, 3: e02917, 2014
292. SUNG YH, CHO SC, HWANG J, KIM SJ, KIM H, BAE S, KIM N, CHANG KH, DANIELS M, RENSHAW PF, LYOO IK. Relationship between N-acetyl-aspartate in gray and white matter of abstinent methamphetamine abusers and their history of drug abuse: a proton magnetic resonance spectroscopy study. *Drug and alcohol dependence*; 88(1): 28-35, 2007
293. SWANSON JM, FLODMAN P, KENNEDY J, SPENCE MA, MOYZIS R, SCHUCK S, MURIAS M, MORIARITY J, BARR C, SMITH M, POSNER M: Dopamine genes and ADHD. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24.1: 21-25, 2000
294. SZURAN TF, PLIŠKA V, POKORNY J, WELZL H. Prenatal stress in rats: effects on plasma corticosterone, hippocampal glucocorticoid receptors, and maze performance. *Physiology & behavior*; 71(3-4): 353-62, 2000
295. ŠLAMBEROVÁ R, SCHINDLER CJ, VATHY I. Impact of maternal morphine and saline injections on behavioral responses to a cold water stressor in adult male and female progeny. *Physiology & behavior*. 75(5): 723-32, 2002
296. ŠLAMBEROVÁ R, VRAJOVÁ M, SCHUTOVÁ B, MERTLOVÁ M, MACÚCHOVÁ E, NOHEJLOVÁ K, HRUBÁ L, PUSKARČÍKOVÁ J,

- BUBENÍKOVÁ-VALEŠOVÁ V, YAMAMOTOVÁ A: Prenatal methamphetamine exposure induces long-lasting alterations in memory and development of NMDA receptors in the hippocampus. *Physiological research*, 63: S547-S558, 2014
297. ŠLAMBEROVÁ R: Drugs in pregnancy: the effects on mother and her progeny. *Physiol research* 61: 123-135, 2012
298. ŠLAMBEROVÁ R, BERNÁŠKOVÁ K, MATĚJOVSKÁ I, SCHUTOVÁ B: Does prenatal methamphetamine exposure affect seizure susceptibility in adult rats with acute administration of the same drug? *Epilepsy research*, 78.1: 33-39, 2008
299. ŠLAMBEROVÁ R, CHAROUSOVÁ P AND POMETLOVÁ M: Maternal behavior is impaired by methamphetamine administered during pre-mating, gestation and lactation. *Reproductive toxicology*, 20.1: 103-110, 2005
300. TAKADA SH, DOS SANTOS HAEMMERLE CA, MOTTA-TEIXEIRA LC, MACHADO-NILS AV, LEE VY, TAKASE LF, CRUZ-RIZZOLO RJ, KIHARA AH, XAVIER GF, WATANABE IS, NOGUEIRA MI: Neonatal anoxia in rats: hippocampal cellular and subcellular changes related to cell death and spatial memory. *Neuroscience*, 284: 247-259, 2015
301. TAN SE. Prenatal amphetamine exposure alters behavioral reactivity to amphetamine in rats. *Neurotoxicology and teratology*; 25(5): 579-85, 2003

302. TAVARES RM, MENDELSON A, GROSSMAN Y, WILLIAMS CH, SHAPIRO M, TROPE Y, SCHILLER D. A map for social navigation in the human brain. *Neuron*; 87(1): 231-43, 2015
303. THAITHUMYANON P, LIMPONGSANURAK S, PRAISUWANNA P, PUNNAHITANON S. Perinatal effects of amphetamine and heroin use during pregnancy on the mother and infant. *Journal-medical association of Thailand*; 88(11): 1506, 2005
304. THAPAR A, RICE F, HAY D, BOIVIN J, LANGLEY K, VAN DEN BREE M, RUTTER M, HAROLD G: Prenatal smoking might not cause attention-deficit/hyperactivity disorder: evidence from a novel design. *Biological psychiatry*, 66.8: 722-727, 2009
305. THAPAR A, COOPER M, EYRE O AND LANGLEY K: Practitioner review: what have we learnt about the causes of ADHD? *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 54.1: 3-16, 2013
306. THEINER P. "ADHD od dětství do dospělosti. *Psychiatrie pro praxi* 13.4: 148-150, 2012
307. TIESLER CMT AND HEINRICH J: Prenatal nicotine exposure and child behavioural problems. *European child & adolescent psychiatry*, 23.10: 913-929, 2014

308. THOMAS WS, NEAL-BELIVEAU BS, JOYCE JN. There is a limited critical period for dopamine's effects on D1 receptor expression in the developing rat neostriatum. *Developmental brain research*; 111(1): 99-106, 1998
309. THOMPSON PM, HAYASHI KM, SIMON SL, GEAGA JA, HONG MS, SUI Y, LEE JY, TOGA AW, LING W, LONDON ED. Structural abnormalities in the brains of human subjects who use methamphetamine. *Journal of Neuroscience*, 24(26): 6028-36, 2004
310. TRIPP G, WICKENS JR. Research review: dopamine transfer deficit: a neurobiological theory of altered reinforcement mechanisms in ADHD. *Journal of child psychology and psychiatry*; 49(7): 691-704, 2008
311. TSANG TW, LUCAS BR, CARMICHAEL OLSON H, PINTO RZ, ELLIOTT EJ: Prenatal alcohol exposure, FASD, and child behavior: a meta-analysis. *Pediatrics*, 137.3, 2016
312. TYUL'KOVA EI, VATAEVA LA, VETROVOI OV, ROMANOVSKII DY. Prenatal hypoxia modifies working memory and the activity of hippocampal polyphosphoinositide system in rats. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*; 51: 131-8, 2015
313. VAN DER KOOIJ MA, GLENNON JC. Animal models concerning the role of dopamine in attention-deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 31(4): 597-618, 2007

314. VAN HANDEL M, SWAAB H, DE VRIES LS, JONGMANS MJ. Long-term cognitive and behavioral consequences of neonatal encephalopathy following perinatal asphyxia: a review. *European journal of pediatrics*; 166: 645-54, 2007
315. VANNUCCI RC. Hypoxic-ischemic encephalopathy. *American journal of perinatology*; 17(03): 113-20, 2000
316. VANNUCCI SJ, HAGBERG H. Hypoxia–ischemia in the immature brain. *Journal of Experimental Biology*; 207(18): 3149-54, 2004
317. VATAEVA LA, TYULKOVA EI, KHOZHAI LI, SAMOILOV MO, OTELLIN VA. Training in the Morris water maze of female and male rats exposed to hypoxia at various periods of prenatal development. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*; 41: 660-4, 2005
318. VAVŘÍNKOVÁ B, BINDER T, VÍTKOVÁ I AND ŽIVNÝ J: Changes of Placenta and Umbilical Cord in Drug-Addicted Women. *Ceska Gynekol*, 66.5: 345-49, 2001
319. VETROVOY O, STRATILOV V, NIMIRITSKY P, MAKAREVICH P and TYULKOVA E: Prenatal Hypoxia Induces Premature Aging Accompanied by Impaired Function of the Glutamatergic System in Rat Hippocampus. *Neurochemical Research*, 46.3: 1-14, 2021a

320. VETROVOY O, TYULKOVA E, STRATILOV V, BARANOVA K, NIMIRITSKY P, MAKAREVICH P, RYBNIKOVA E. Long-term effects of prenatal severe hypoxia on central and peripheral components of the glucocorticoid system in rats. *Developmental Neuroscience*; 42(2-4): 145-58, 2021b
321. VIGGIANO D, VALLONE D, RUOCCO LA, SADILE AG. Behavioural, pharmacological, morpho-functional molecular studies reveal a hyperfunctioning mesocortical dopamine system in an animal model of attention deficit and hyperactivity disorder. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*; 27(7): 683-9, 2003
322. VIGGIANO D, VALLONE D and SADILE A. Dysfunctions in dopamine systems and ADHD: evidence from animals and modeling. *Neural plasticity*, 11: 97-114, 2004
323. VLASSAKS E, GAVILANES AW, VLES JS, DEVILLE S, KRAMER BW, STRACKX E, Martinez-Martinez P. The effects of fetal and perinatal asphyxia on neuronal cytokine levels and ceramide metabolism in adulthood. *Journal of Neuroimmunology*; 255(1-2): 97-101, 2013
324. VOLKOW ND, CHANG L, WANG GJ, FOWLER JS, FRANCESCHI D, SEDLER M, GATLEY SJ, MILLER E, HITZEMANN R, DING YS, LOGAN J. Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence. *Journal of Neuroscience*; 21(23): 9414-8, 2001a

325. VOLKOW ND, CHANG L, WANG GJ, FOWLER JS, FRANCESCHI D, SEDLER MJ, GATLEY SJ, HITZEMANN R, DING YS, WONG C, LOGAN J. Higher cortical and lower subcortical metabolism in detoxified methamphetamine abusers. *American Journal of Psychiatry*; 158(3): 383-9, 2001b
326. VOLKOW ND, CHANG L, WANG GJ, FOWLER JS, LEONIDO-YEE M, FRANCESCHI D, SEDLER MJ, GATLEY SJ, HITZEMANN R, DING YS, LOGAN J. Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *American Journal of Psychiatry*; 158(3): 377-82, 2001c
327. VOLKOW ND, WANG GJ, KOLLINS SH, WIGAL TL, NEWCORN JH, TELANG F, FOWLER JS, ZHU W, LOGAN J, MA Y, PRADHAN K. Evaluating dopamine reward pathway in ADHD: clinical implications. *Jama*; 302(10): 1084-91, 2009
328. VOLKOW ND, FOWLER JS, WANG GJ, SHUMAY E, TELANG F, THANOS PK, ALEXOFF D. Distribution and pharmacokinetics of methamphetamine in the human body: clinical implications. *PloS one*; 5(12): e15269, 2010
329. VOLKOW ND, WANG GJ, NEWCORN JH, KOLLINS SH, WIGAL TL, TELANG F, FOWLER JS, GOLDSTEIN RZ, KLEIN N, LOGAN J, WONG C. Motivation deficit in ADHD is associated with dysfunction of the dopamine reward pathway. *Molecular psychiatry*; 16(11): 1147-54, 2011

330. VORHEES CV. Behavioral effects of prenatal d-amphetamine in rats: a parallel trial to the Collaborative Behavioral Teratology Study. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*; 7(6): 709-16, 1985
331. WAKSCHLAG LS, LAHEY BB, LOEBER R, GREEN SM, GORDON RA, LEVENTHAL BL: Maternal smoking during pregnancy and the risk of conduct disorder in boys. *Archives of general psychiatry*, 54.7: 670-676, 1997
332. WALSH SL, WAGNER GC. Motor impairments after methamphetamine-induced neurotoxicity in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 263(2): 617-26, 1992
333. WANG H, CHUNG Y, YU SK, JUN Y. The immunoreactivity of PI3K/AKT pathway after prenatal hypoxic damage. *in vivo*; 31(5): 855-60, 2017
334. WARTON FL, MEINTJES EM, WARTON CM, MOLTENO CD, LINDINGER NM, CARTER RC, ZÖLLEI L, WINTERMARK P, JACOBSON JL, VAN DER KOUWE A, JACOBSON SW. Prenatal methamphetamine exposure is associated with reduced subcortical volumes in neonates. *Neurotoxicology and teratology*; 65: 51-9, 2018 (a)
335. WARTON FL, TAYLOR PA, WARTON CM, MOLTENO CD, WINTERMARK P, LINDINGER NM, ZÖLLEI L, VAN DER KOUWE A, JACOBSON JL, JACOBSON SW, MEINTJES EM. Prenatal methamphetamine

- exposure is associated with corticostriatal white matter changes in neonates. *Metabolic brain disease*; 33(2): 507-22, 2018 (b)
336. WILLIAMS MT, BLANKENMEYER TL, SCHAEFER TL, BROWN CA, GUDELSKY GA, VORHEES CV: Long-term effects of neonatal methamphetamine exposure in rats on spatial learning in the Barnes maze and on cliff avoidance, corticosterone release, and neurotoxicity in adulthood. *Developmental brain research*; 147(1-2): 163-75, 2003
337. WINSLOW BT, VOORHEES KI AND PEHL KA. Methamphetamine abuse. *American family physician*, 76(8), pp.1169-1174, 2007
338. WIMER CC, WIMER RE, RODERICK TH. Some behavioral differences associated with relative size of hippocampus in the mouse. *Journal of comparative and physiological psychology*; 76(1): 57, 1971
339. WEI B, LI L, HE A, ZHANG Y, SUN M AND XU Z: Hippocampal NMDAR-Wnt-Catenin signaling disrupted with cognitive deficits in adolescent offspring exposed to prenatal hypoxia. *Brain research*, 1631: 157-164, 2016
340. WON L, BUBULA N, MCCOY H, HELLER A. Methamphetamine concentrations in fetal and maternal brain following prenatal exposure. *Neurotoxicology and teratology*; 23(4): 349-54, 2001

341. WOULDES TA, LAGASSE LL, HUESTIS MA, DELLAGROTTA S, DANSEREAU LM, LESTER BM. Prenatal methamphetamine exposure and neurodevelopmental outcomes in children from 1 to 3 years. *Neurotoxicology and teratology*; 42: 77-84, 2014
342. WRIGHT TE, SCHUETTER R, TELLEI J, SAUVAGE L. Methamphetamines and pregnancy outcomes. *Journal of addiction medicine*; 9(2): 111, 2015
343. WU J, XIAO H, SUN H, ZOU L, ZHU LQ. Role of dopamine receptors in ADHD: a systematic meta-analysis. *Molecular neurobiology*; 45: 605-20, 2012
344. YAMAMOTOVÁ A, ŠLAMBEROVÁ R, JEDLIČKA M, JAKUB T: Gender differences in nociception in adult rats prenatally treated with methamphetamine. *Homeostasis*, 43.2: 99-101, 2004
345. YU Q, LARSON DF, WATSON RR: Heart disease, methamphetamine and AIDS. *Life sciences*, 73.2: 129-140, 2003
346. ZHANG K, TARAZI FI, BALDESSARINI RJ. Role of dopamine D4 receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats. *Neuropsychopharmacology*; 25(5): 624-32, 2001
347. ZHANG K, DAVIDS E, TARAZI FI, BALDESSARINI RJ. Effects of dopamine D 4 receptor-selective antagonists on motor hyperactivity in rats with neonatal 6-hydroxydopamine lesions. *Psychopharmacology*; 161: 100-6, 2002

348. ZHOU J, XIAO D, HU Y, WANG Z, PARADIS A, MATA-GREENWOOD E, ZHANG L. Gestational hypoxia induces preeclampsia-like symptoms via heightened endothelin-1 signaling in pregnant rats. *Hypertension*; 62(3): 599-607, 2013
349. ZHU C, WANG X, XU F, BAHR BA, SHIBATA M, UCHIYAMA Y, HAGBERG H, BLOMGREN K. The influence of age on apoptotic and other mechanisms of cell death after cerebral hypoxia–ischemia. *Cell Death & Differentiation*; 12(2): 162-76, 2005
350. ZHU JL, OLSEN J, LIEW Z, LI J, NICLASEN J, OBEL C: Parental smoking during pregnancy and ADHD in children: the Danish national birth cohort. *Pediatrics*, 134.2: e382-e388, 2014
351. ZHURAVIN IA, TUMANOVA NL, OZIRSKAYA EV, VASIL'EV DS, DUBROVSKAYA NM. Formation of the structural and ultrastructural organization of the striatum in early postnatal ontogenesis of rats in altered conditions of embryonic development. *Neuroscience and Behavioral Physiology*; 36: 473-8, 2006
352. ZHURAVIN IA, TUMANOVA NL, VASILIEV DS. Structural changes of the hippocampus nervous tissue in rat ontogenesis after prenatal hypoxia. *Journal of evolutionary biochemistry and physiology*; 45(1): 156, 2009
353. ZHURAVIN IA, DUBROVSKAYA NM, VASILEV DS, TUMANOVA NL, NALIVAEVA NN. Epigenetic and pharmacological regulation of the amyloid-

degrading enzyme neprilysin results in modulation of cognitive functions in mammals.

Doklady Biological Sciences, 438.1, 145, 2011

354. ZHURAVIN IA, DUBROVSKAYA NM, VASILEV DS, POSTNIKOVA TY and ZAITSEV AV: Prenatal hypoxia produces memory deficits associated with impairment of long-term synaptic plasticity in young rats. *Neurobiology of learning and memory*, 164: 107066, 2019
355. ZOUBKOVÁ H, TOMÁŠKOVÁ A, NOHEJLOVÁ K, ČERNÁ M, ŠLAMBEROVÁ R. Prenatal exposure to methamphetamine: up-regulation of brain receptor genes. *Frontiers in neuroscience*; 13: 771, 2019

13. Seznam obrázků

Obr. 1: VÉRONNEAU-VEILLEUX F, ROBAEY P, URSINO M, NEKKA F. A mechanistic model of ADHD as resulting from dopamine phasic/tonic imbalance during reinforcement learning. *Frontiers in Computational Neuroscience*.16, 2022

Obr.2: HESSLINGER B, VAN ELST LT, THIEL T, HAEGELE K, HENNIG J, EBERT D. Frontoorbital volume reductions in adult patients with attention deficit hyperactivity disorder. *Neuroscience letters*;328(3):319-21, 2002

Obr.3: Charles River Laboratories archive, Dostupné online:
<https://www.criver.com/products-services/find-model/spontaneously-hypertensive-shr-rat?region=3616>

Obr.4: RxList.com, Dostupné online: <https://www.rxlist.com/desoxyn-drug.htm>

Obr.5: Sigma Aldrich archive, Dostupné online:
<https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/cerillian/m009>

Obr.6: LI L, EVERHART T, JACOB III P, JONES R, MENDELSON J. Stereoselectivity in the human metabolism of methamphetamine. *British journal of clinical pharmacology*; 69(2):187-92, 2010

Obr.7: YANG X, WANG Y, LI Q, ZHONG Y, CHEN L, DU Y, HE J, LIAO L, XIONG K, YI CX, YAN J. The main molecular mechanisms underlying methamphetamine-induced neurotoxicity and implications for pharmacological treatment. *Frontiers in molecular neuroscience*.;11:186, 2018

Obr.8: časová osa NORT, vytvořeno v biorender.com

Obr.9: Histogene archive, Dostupné online: <https://histogene.co/novel-object-recognition-test/>

Obr.10: časová osa OLT, vytvořeno v biorender.com

Obr.11: Zařízení Laboras, Dostupné online: <https://www.metris.nl/laboras/laboras.htm>

Obr.12: Morrisovo vodní bludiště, schéma změny trajektorie v průběhu testování, archiv autorky z programu Ethovision XT10

14. Publikace a prezentace autora

14.1. Publikace in extenso

1. Šlamberová R, Nohejlová K, **Ochozková A**, Mihalčíková L. What is the role of subcutaneous single injections on the behavior of adult male rats exposed to drugs?. *Physiological Research*. 67: S665-72, 2018 **IF 2.103**
2. **Ochozková A**, Mihalčíková L, Yamamotová A, Šlamberová R. ADHD symptoms induced by prenatal methamphetamine exposure. *Physiological Research*. 68(Suppl 3): S347-52, 2019 **IF 2.103**
3. Mihalčíková L, **Ochozková A**, Šlamberová R. Effect of methamphetamine exposure on sexual behavior and locomotor activity of adult male rats. *Physiological Research*. 68: S339-46, 2019 **IF 2.103**
4. **Ochozková A**, Mihalčíková L, Yamamotová A, Šlamberová R. Can prenatal methamphetamine exposure be considered a good animal model for ADHD? *Physiological Research*. 70(Suppl 3): S431, 2021 **IF 2.103**
5. Mihalčíková L, **Ochozková A**, Šlamberová R. Does paternal methamphetamine exposure affect the behavior of rat offspring during development and in adulthood? *Physiological Research*. 70(Suppl 3): S419, 2021 **IF 2.103**

14.2. Prezentace a abstrakta

17th Biennial Meeting of the European Behavioural Pharmacology Society, 31.8.-3.9.2017, Heraklion, Řecko: Šlamberová R., Nohejlová K., Ochozková A., Mihalčíková L.: *Dose dependent effect of THC on behavior in unknown environment in adult male rats.* (poster).

11th Meeting of the Czech Neuroscience Society, 28.-29.11.2017 Praha: Ochozková A., Mihalčíková L., Yamamotová A., Šlamberová R.: *The Effect Of Prenatal Metamphetamine Application On Adult Male Rat Memory And Learning And Behavior In Unknown Environment* (poster).

Výjezdní zasedání Progres Q35, Brandýs nad Labem 2017: *Efekt prenatální aplikace metamfetaminu na učení, paměť a pohybovou aktivitu* (ústní prezentace).

60. česko-slovenská psychofarmakologická konference 9.-14.1.2018, Jeseník: Ochozková A., Mihalčíková L., Šlamberová R.: *The Effect Of Prenatal Metamphetamine Application On Adult Male Rat ADHD Symptoms* (poster).

94. Fyziologické dny, 6.-8.2.2018 Lékařská fakulta Plzeň, Univerzita Karlova: Ochozková, A., Mihalčíková, L., Yamamotová, A., Šlamberová, R. *Modely ADHD v dětství, dospívání a dospělosti* (poster).

Studentská vědecká konference, 3. Lékařská fakulta Praha 22.5.2018: Ochozková A., Mihalčíková L., Šlamberová R.: *Vliv prenatální aplikace metamferaminu na vznik příznaků podobným ADHD* (poster).

11th FENS Forum of Neuroscience, 7.-11.7.2018, Berlín, Německo: Ochozková A., Mihalčíková L., Šlamberová R.: *The Effect Of Prenatal Methamphetamine Application On Adult Male Rat ADHD Symptoms* (poster).

The 48th annual meeting of Society for Neuroscience, 3.-7.11. 2018, San Diego, California, USA: Ochozková, A., Mihalčíková, L., Yamamotová, A., Šlamberová, R.: *ADHD symptoms and prenatal metamphetamine exposure* (poster).

Výjezdní zasedání Progres Q 35, 23.-24.11. 2018, Velké Popovice:

Vliv prenatální aplikace metamfetaminu na pohybovou aktivitu laboratorního potkana (ústní prezentace).

95. Fyziologické dny 5-7.2. 2019, Praha: *Ochozková A., Mihalčíková L., Šlamberová R.:*

ADHD Symptoms And Prenatal Methamphetamine Exposure (poster).

EBPS Biennial meeting, 28.- 31.8. 2019, Braga, Portugalsko: *Ochozková A., Mihalčíková L.,*

Yamamotová, A., Šlamberová R.: The Impact Of Prenatal Methamphetamine Exposure And Prenatal Hypoxia On Short Term Memory In Male Rats (poster).

The 10th IBRO World congress of Neuroscience 21.-25.9.2019 Daegu, Jižní Korea:

Ochozková A., Mihalčíková L., Yamamotová, A., Šlamberová R.: Prenatal methamphetamine exposure and prenatal hypoxia influence short term memory (poster).

THE 12th CONFERENCE OF THE CZECH NEUROSCIENCE SOCIETY 26.-

27.11.2019 Praha: *Ochozková A., Mihalčíková L., Yamamotová, A., Šlamberová R.: Prenatal methamphetamine exposure, prenatal hypoxia may affect short term memory* (poster).

Výjezdní zasedání Progres Q 35 22.-23.11.2019 Velké Popovice: Vliv prenatální expozice metamfetaminu na paměť laboratorního potkana (ústní prezentace).

15. Seznam příloh

1. **Ochozková A, Mihalčíková L, Yamamotová A, Šlamberová R.** ADHD symptoms induced by prenatal methamphetamine exposure. *Physiological Research*. 68(Suppl 3): S347-52, 2019

2. **Ochozková A, Mihalčíková L, Yamamotová A, Šlamberová R.** Can prenatal methamphetamine exposure be considered a good animal model for ADHD? *Physiological Research*. 70(Suppl 3): S431, 2021