

Egy új pszichoaktív drog, a metiléndioxipirovaleron (MDPV) pre- és posztnatális hatásainak vizsgálata állatmodellben

Doktori értekezés

Dr. Gerecsei László István

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Ádám Ágota, Ph.D., egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók: Dr. Hrabovszky Erik, az MTA doktora, tudományos tanácsadó

Dr. Tábi Tamás, Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Alpár Alán, az MTA doktora, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Réthelyi Miklós, az MTA doktora, rector emeritus

Dr. Schlett Katalin, Ph.D., egyetemi docens

Budapest

2019

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	5
1. BEVEZETÉS	9
1.1 A designer drogok és az új pszichoaktív szerek	9
1.1.1. Az új pszichoaktív szerek elterjedése	9
1.1.2. Az új pszichoaktív szerek törvényi szabályozása	11
1.2. A szintetikus katinonok és a 3,4-metilédioxipirovaleron (MDPV)	13
1.2.1. A szintetikus katinonok és az MDPV elterjedése	13
1.2.2. A szintetikus katinonok és az MDPV klinikai hatásai	16
1.2.2.1. A használat akut hatásai.....	16
1.2.2.2. A használat módjából adódó kockázatok	19
1.2.2.3. Krónikus használat	19
1.2.2.4. Az MDPV hatása humán terhességre	20
1.2.2.5. Az MDPV és a rokon vegyületek terhesség alatti fogyasztásának hatásai	20
1.3. Az MDPV és a rokon vegyületek farmakológiája	23
1.3.1. Az MDPV farmakokinetikája	23
1.3.2. A központi idegrendszeri monoamin rendszer és szerepe az addikcióban ...	24
1.3.2.1. Az addikció neuroanatómiai és élettani alapjai	25
1.3.3. A szintetikus katinonok és az MDPV hatásmechanizmusa	27
1.3.4. Az MDPV általános hatásai állatkísérletekben	28
1.3.5. A pszichostimulánsok, a szintetikus katinonok és az MDPV prenatális expozíciójának hatásai állatkísérletekben	30
1.3.6. A pszichostimulánsok, a szintetikus katinonok és az MDPV neurotoxikus hatása.....	33
1.4. Az apoptózis folyamata	36
1.4.1. A kaszpáz 3 szerepe az apoptózisban.....	37
1.5. Az anyai adaptáció és az utódgondozó viselkedés	39

1.5.1. Az anyai adaptáció és viselkedés, valamint zavarai emberben	39
1.5.2. Anyai adaptáció és viselkedés rágcsálókban.....	40
1.5.3. Az anyai viselkedés szabályozásának alapjai	41
1.5.3.1. Idegi, szenzoros hatások.....	41
1.5.3.2. Hormonális hatások.....	44
1.5.3.3. Neuromodulátorok és neurotranszmitterek hatásai az anyai adaptációra	45
1.5.4. Pszichostimulánsok és szintetikus katinonok hatása az anyai adaptációra ...	47
2. CÉLKITŰZÉSEK	49
3. MÓDSZEREK	50
3.1. Az MDPV hatása a felnőtt és utód egerek viselkedésére valamint az anyai adaptációra	50
3.1.1. A kísérleti állatok kezelése.....	50
3.1.2. A lokomotor aktivitás mérése	51
3.1.3. A motoros koordináció mérése	52
3.1.4. Az anyai adaptáció mérése viselkedési tesztekkel	53
3.1.5. Az anyai adaptáció vizsgálata in situ hibridizációs technikával	54
3.2. Az MDPV apoptotikus hatása.....	57
3.2.1. Kísérleti állatok, kezelésük és viselkedési megfigyelések.....	57
3.2.2. Az apoptózis vizsgálata immunhisztokémiával	57
3.3. Statisztikai kiértékelés	60
4. EREDMÉNYEK	61
4.1. Az MDPV hatása a felnőtt és utód egerek viselkedésére, valamint az anyai adaptációra	61
4.1.1. Az anyaegerek vemhesség alatti kezelésének hatása a szülés kimenetelére. 61	
4.1.2. A lokomotor aktivitás.....	62
4.1.3. A motoros koordináció.....	65
4.1.4. Az anyai adaptáció mérése viselkedési tesztekkel	66
4.1.5. Az anyai adaptáció vizsgálata in situ hibridizációs technikával	68
4.2. Az MDPV apoptotikus hatása.....	71
4.2.1. Locomotor aktivitás és testhőmérséklet.....	71

4.2.2. Az apoptózis vizsgálata immunhisztokémiával	72
5. MEGBESZÉLÉS.....	78
5.1. Vemhesség alatti MDPV expozíció hatása annak kimenetelére.....	78
5.2. Vemhesség alatti MDPV expozíció hatása az utódok viselkedésére.....	79
5.3. Vemhesség alatti krónikus MDPV adagolás hatása az anyai viselkedésre	82
5.4. Az MDPV apoptotikus hatása.....	85
6. KÖVETKEZTETÉSEK	90
7. ÖSSZEFOGLALÁS.....	91
8. SUMMARY	92
9. IRODALOMJEGYZÉK.....	93
10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK.....	130
10.1. A doktori értekezés alapjául szolgáló publikációk:	130
10.2. Egyéb publikációk:	130
11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	131

Rövidítések jegyzéke

3-FMC	3-fluorometkatinon
3-MMC	3-metilmetkatinon
4-MMC	4-metilmetkatinon (mefedron)
3V	ventriculus tertius
4-MEC	4-metiletkatinon
5-HIAA	5-hidroxiindolacetát
5-HT	5-hidroxitriptamin (szerotonin)
Ac	nucleus accumbens
aca	commissura anterior
AcC	nucleus accumbens core (mag) régió
AcS	nucleus accumbens shell (kéreg) régió
ADHD	figyelemhiányos hiperaktivitás zavar
AHN	nucleus hypothalamicus anterior
ANOVA	varianciaanalízis (<u>analysis of variance</u>)
Apaf-1	apoptotikus proteáz inhibitor faktor 1
APT	nucleus pretectalis anterior
Aq	aqueductus cerebri
Arc	nucleus arcuatus
Arc/Arg3.1	aktiváció szabályozott citoszkeleton-asszociált fehérje (<u>activity-regulated cytoskeleton-associated protein</u>)
ATP	adenozin-trifoszfát
Bak	BCL-2 killer
BAX	BCL-2 asszociált X protein
BCL-2	B sejt limfóma-2
BNST	nucleus interstitialis striae terminalis (bed nucleus of stria terminalis)
CA1	cornu ammonis 1-es régió (hippocampus)
Casp3+	kaspáz 3 pozitív
CB1	kannabinoid receptor 1
cDNS	komplementer DNS
CPP	kondicionált helypreferencia teszt (<u>conditioned place preference test</u>)

CPu	caudatus-putamen
CREB	ciklikus adenzin-monofoszfát rezponzív elem kötőfehérje (cyclic-AMP response element binding protein)
CYP	citokróm P450
CYP1A2	citokróm P450 1A2
CYP2C19	citokróm P450 2C19
CYP2D6	citokróm P450 2D6
D1, D2	1-es és 2-es típusú dopamin receptor
DA	dopamin
DAPI	4,6-diamidino-2-fenilindoldihidroklorid
DAT	dopamin transzporter
DISC	halál indukáló szignál komplex (death-inducing signaling complex)
DR	halál receptor
E	ösztrogének
E₂	17 β -ösztradiol
EMCDDA	Kábítószer és Kábítószer-függőség Európai Megfigyelőközpontja (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction)
ERK1/2	extracelluláris szignálok által regulált kináz (extracellular signal-regulated kinase)
Fas	első apoptózis jel (First apoptosis signal)
fmi	forceps minor corporis callosi
fMRI	funkcionális MRI
GABA	gamma-amino-vajsav
GFAP	gliális fibrilláris savas protein
HCV	hepatitis vírus C
HIV	humán immundeficiencia vírus
Hp DG	hippocampus gyurus dentatus
Hp	hippocampus
HT_{2A/2C}	2A és 2C típusú szerotonin receptor
ip.	intraperitoneális
IUGR	intrauterin növekedési retardáció (intrauterine growth restriction)
KYNA	kinurénsav

LSD	lizerginsav-dietilamin
LTD	tartós szinaptikus gátlás (long-term depression)
LV	oldalkamra
M.W. U-teszt	Mann-Whitney-féle U-teszt
M1	primer motoros kéreg
MDMA	3,4-metiléndioximetamfetamin
MDMC	3,4-metiléndioxi-N-metilketon (metilon)
MDPV	3,4-metiléndioxipirovaleron
MeA	medialis amygdala
METH	metamfetamin
mGLUR5	metabotrop glutamát receptor 5
MOF	több szervi elégtelenség (multi organ failure)
MPO/MPOA	area preoptica medialis
MRI	mágneses rezonancia képalkotás
mRNS	messenger RNS
MWM	Morris-féle vízi labirintus teszt (Morris water maze test)
NET	noradrenalin transzporter
NGS	normál kecske szérum
NMDA	N-metil-D-aszparaginát
NMDAR	NMDA receptor
NPS	új pszichoaktív szerek (<u>n</u> ovel <u>p</u> sychoactive <u>s</u> ubstances)
NR1	1-es típusú NMDA receptor alegység
NR2A, B	2A és 2B típusú NMDA receptor alegység
OB	bulbus olfactorius
ORFK	Országos Rendőr-főkapitányság
OT	oxitocin
P	progeszteron
PAG	substantia grisea centralis (periaqueductal gray)
PCR	polimeráz-lánreakció
Pctx	parietalis cortex
PIL	posterior intralaminar complex (thalamus)
Pir	piriform kéreg

Prol	prolaktin
PTH2R	kettes típusú parathormon receptor (parathyroid hormone 2 receptor)
PTP	permeabilitási tranzíciós pórus (permeability transition pore)
PVN	nucleus paraventricularis
ROS	reaktív oxigén species
RSp	retrosplénialis kéreg
sc.	subcutan
Sept	septum
SERT	szerotonin transzporter
SON	nucleus supraopticus
SN	substantia nigra
TH	tirozin-hidroxiláz
TIP39	tuberoinfundibuláris peptid 39
TNF	tumor nekrosis faktor
TPH-2	triptofán-hidroxiláz 2
ttkg	testtömeg kg
UTP	uridin-trifoszfát
vBNST	bed nucleus of stria terminalis, pars ventralis
VMAT	vezikuláris monoamin transzporter
VMH	ventromedialis hypothalamus
VP	ventralis pallidum
VTA	ventralis tegmentalis area
XIAP	X-hez kötött apoptotikus proteáz inhibitor (X-linked inhibitor of apoptotic proteases)
α-PVP	α -pirrolidinopentiofenon

1. BEVEZETÉS

1.1 A designer drogok és az új pszichoaktív szerek

Az utóbbi 10-15 évben a klasszikusnak számító drogok mellett, mint amilyen például a kokain és az amfetaminok, a marihuána és a heroin valamint a lizerginsav-dietilamin (LSD) és más hallucinogének, több száz új vegyület jelent meg a világ illegális kábítószerének piacán (King és mtsai 2011). Ezeket a vegyületeket a designer drogok és az új pszichoaktív szerek fogalma alatt gyűjtjük össze.

Designer drogoknak nevezzük azokat a kémiai anyagokat, melyek ismert vegyületek szerkezeti vagy funkcionális analógjai, ezáltal azok farmakológiai tulajdonságait utánozzák. A designer drogokat azért állítják elő, hogy a jellemzően kismértékű szerkezeti változtatás következtében létrejövő új szer a törvényi szabályozás alól kikerüljön, vagy az analitikai rutineljárások során felfedezhetősége csökkenjen (Wolhfarth és mtsai 2010). Így a designer drogok már ismert és elterjedt (pl: amfetamin, heroin) pszichoaktív szerek utáinzatainak tekinthetőek.

Új pszichoaktív szereknek (Novel Psychoactive Substances = NPS) eredetileg azokat a vegyületeket nevezzük, melyek visszaélészerű használata az egészségre potenciálisan veszélyes, de nincsenek törvényi kontroll alatt. A definíció alatt ma leginkább azokat a szereket foglaljuk össze, melyek visszaélés szerű használata a 2000-es években jelent meg (bár a vegyület maga sokszor már évtizedekkel korábban ismert volt) és hatásaik a már törvényi szabályozás alatt álló szerekére nagyon hasonlítanak. Látható, hogy a designer drogok és az NPS definíciója átfed, a szakirodalomban mindkettő elterjedt.

1.1.1. Az új pszichoaktív szerek elterjedése

Az Európai Unióban ismert új pszichoaktív szerek száma 2017 végén már legalább 670 volt, melyek 70%-át az utóbbi 5 évben mutatták ki első alkalommal és csak a 2017-es év folyamán 51 olyan szert azonosítottak Európában, melyet korábban még nem. Ez a magas szám még így is alacsonyabb a korábbi évekhez képest: a csökkenés lehetséges oka az, hogy az európai kormányok egyre hatékonyabb intézkedéseket vezetnek be az előállítás és a terjesztés ellen. Ezenkívül Kínában (mely az új pszichoaktív

szerek fő forrása) a hatóságok egyre erélyesebben lépnek fel az előállító illegális laboratóriumok ellen (EMCDDA 2018).

Az új pszichoaktív szerek piacának megismeréséhez fontos adatot szolgáltatnak a hatóság által lefoglalt kábítószer mennyiségek. Az utóbbi évekhez hasonlóan jelenleg is két vegyületcsoport dominál: az összes lefoglalás 80%-a a szintetikus kannabinoidok vagy a szintetikus katinonok közül kerül ki. Ezen kívül jóval kisebb arányban, de jelen vannak a benzodiazepinek, a szintetikus opiátok, a triptaminok, az arilciklohexilaminok, a fenilaminok és egyéb anyagok is (EMCDDA 2018).

Az új pszichoaktív szerek elterjedésére vonatkozóan viszonylag kevés adat áll rendelkezésre, bár az utóbbi időben számos európai országban végeznek normálpopulációs felméréseket e szerekre vonatkozóan is. Így a 17 és 34 év közötti felnőttek körében az előző éves használat prevalenciája 0,2% (Olaszország, Norvégia) és 1,7% között (Románia) mozgott. Összességében tehát az e szereket fogyasztók száma Európában viszonylag alacsonynak mondható, de a legtöbb európai országban megfigyelhető, hogy fogyasztásuk a leginkább kiszolgáltatott, úgynevezett magas kockázatú csoportok körében a legmagasabb. A szintetikus kannabinoidok, katinonok és az opiátok (főleg intravénás) használata összefüggésbe hozható más egészségügyi és szociális problémákkal, valamint használatuk különösen elterjedt az olyan marginalizálódott csoportokban, mint a hajléktalanok vagy a büntetés-végrehajtási intézetekben fogvatartottak (EMCDDA 2018; Minnes és mtsai 2011; Van Hout és mtsai 2018). Az új pszichoaktív szerek terjedéséhez nagyban hozzájárulnak az internet illegális, vagy jogilag szürke zónában található szolgáltatásai, úgymint a dark web kereső és adásvételi oldalai (pl. „Tor” keresőmotor), valamint a Bitcoin és egyéb kriptovaluták használata (EMCDDA 2017; Regan és mtsai, 2011). Újabban azonban megfigyelhető, hogy az új pszichoaktív szerek és a designer drogok árusítása legális felületeken is folyik, például a közösségi média zárt csoportjaiban (EMCDDA 2018), ez pedig tovább fokozza a potenciális vásárlók hamis biztonságérzetét a szerek veszélyességét és jogállását illetően. Az előállítók sokszor növényvédő szerként, fürdősóként vagy egyszerűen „legal high”-ként jelölik meg termékeiket (Leffler és mtsai 2014), emiatt esetleg olyan személyek is kipróbálják őket, akik amúgy nem próbálnának ki ismertem illegális drogot (Regan és mtsai 2011).

1.1.2. Az új pszichoaktív szerek törvényi szabályozása

Magyarországon az új pszichoaktív szerek jogállását a *2005. évi XCV. törvény az emberi alkalmazásra kerülő gyógyszerekről és egyéb, a gyógyszerpiacot szabályozó törvények módosításáról* c. törvény szabályozza. Az egészségügyért felelős miniszter rendeleti úton minősíthet egyes anyagokat vagy vegyületcsoportokat új pszichoaktív szerré, miután az adott anyag vagy vegyületcsoport előzetes szakmai értékelését a kormányrendeletben kijelölt szakértői szerv elvégezte (2005. évi XCV. törvény 15/B. §). Ez a szabályozási forma a jogalkotó és a végrehajtó szervek viszonylag gyors reagálását teszi lehetővé az új pszichoaktív anyagok gyorsan változó piacán. Az Európai Unió több országában a kormány (pl.: Finnország) vagy a parlament (pl.: Egyesült Királyság) dönt az újonnan azonosított vegyületek listába vételéről, más országokban nem léteznek az új pszichoaktív szereknek külön jogilag rögzített listája (pl.: Írország, Románia) (EMCDDA és EUROJUST 2016). Magyarországon az adott szer az új pszichoaktív anyagok listájára való felkerülés után 1 évvel újra kockázatértékelésre kerül, melynek három lehetséges kimenetele van. Amennyiben a szerről bebizonyosodik, hogy hasonló fenyegetést jelent a közegészségügyre, mint más, már ismert pszichotróp szerek, akkor a megfelelő pszichotróp anyag jegyzékre kerül, új pszichoaktív szer minősítése megszűnik. Ha a kockázatértékelés nem támasztja alá a közegészségügyre való veszélyességet, akkor is lekerül a szer az új pszichoaktív anyagok listájáról és kormányrendeletben meghatározott más jegyzékre kell felvenni. Ha 1 éven belül a szakértői szervek nem tudják megállapítani (pl. elegendő adat hiányában), hogy az adott anyag veszélyes-e a közegészségügyre vagy sem, akkor az adott szer az új pszichoaktív anyagok listáján marad. A kockázatelemzést a szakértői szervek ezután két évente újra elvégzik, addig, amíg az adott anyag más listára nem kerülhet (2005. évi XCV. törvény 15/C §).

Az új pszichoaktív anyagokkal való visszaélésről a *2012. évi C. törvény a Büntető Törvénykönyvről* az irányadó. A magyarországi szabályozás az Európai Unió legszigorúbbjai közé tartozik, Lettország mellett hazánk a másik tagállam, amely új pszichoaktív szerek birtoklását is szabadságvesztéssel bünteti (EMCDDA és EUROJUST 2016). Tilos az ilyen anyagok exportja, importja, előállítás, szállítása, birtoklása; e cselekmények 3 évig terjedő szabadságvesztést vonhatnak maguk után (bizonyos körülmények között 5 évig terjedőt). Az új pszichoaktív anyagokkal való kereskedelem, azok kínálása, átadása, forgalomba hozása 1 évtől 5 évig terjedő szabadságvesztéssel

büntethető (bizonyos körülmények között 8 évig terjedő) (2012. évi C. törvény 184. §). A büntetési tételek alacsonyabbak, ha az új pszichoaktív anyag tiszta hatóanyagtartalma a 2 grammot nem haladja meg, de ekkor is szabadságvesztéssel büntethetőek a fenti cselekmények (2012. évi C. törvény 184/D. §).

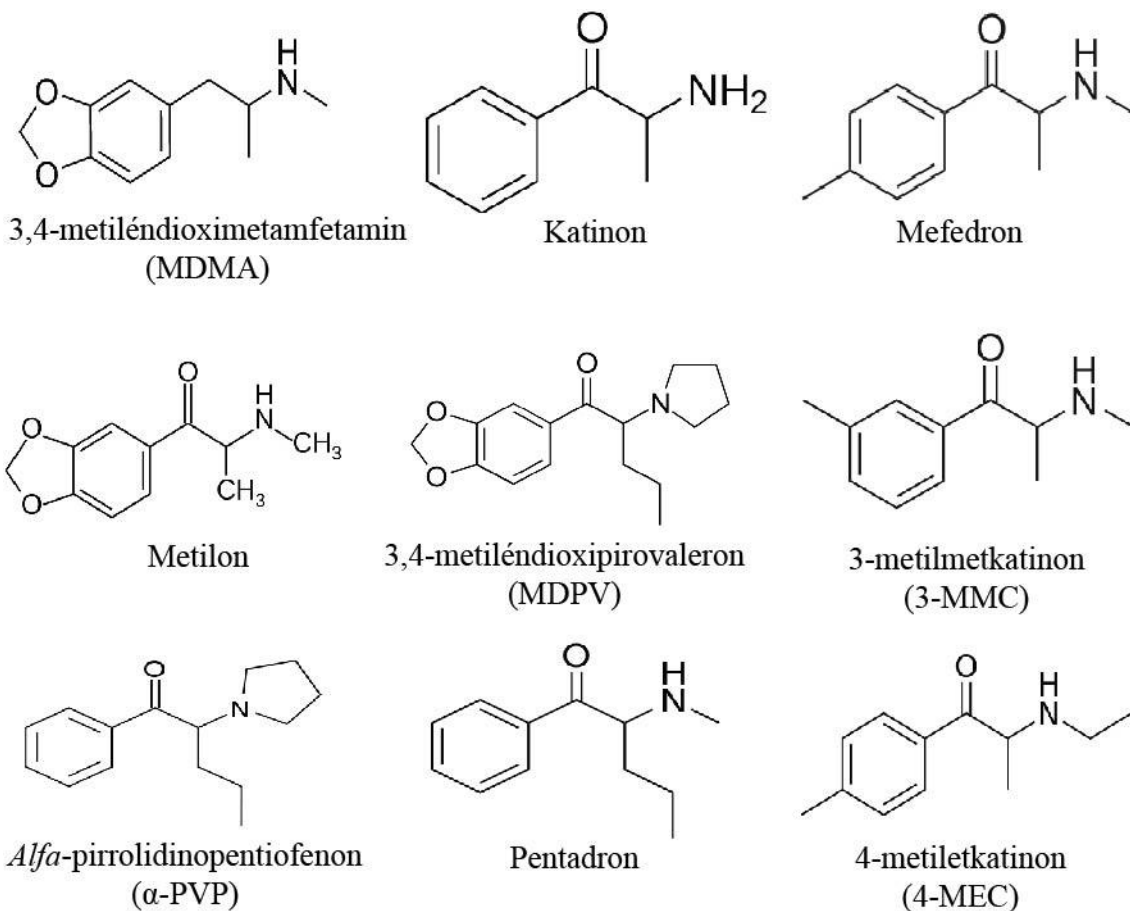
Érdemes röviden megvizsgálni, hogy a törvénykezés szigorúsága milyen hatással van az új pszichoaktív szerek piacára. Az Európai Unióban a 2000-es évek közepén a 3,4-metiléndioximetamfetamin (MDMA, ismertebb nevén „Ecstasy”) helyett új anyagok kerültek előtérbe, köszönhetően annak, hogy az MDMA-ra vonatkozó törvények szigorodtak és a hatósági fellépés a szer fogyasztására és terjesztésére egyre erélyesebbé vált (Brunt és mtsai 2011). Az MDMA-t helyettesítendő jelent meg a piacon többek között a 4-metilmetkatinon (mefedron vagy 4-MMC) és a 3,4-metiléndioxipirovaleron (MDPV) is, mely utóbbi kísérleteink tárgyát képezi. Ezek a szerek mind a designer drog, mind az új pszichoaktív anyag definíciójának megfelelnek. Az új anyagokat az előállítók sokszor MDMA-ként jelölték, egymással és MDMA-val keverték, nehezítve így az azonosítást, valamit elhítelve a vásárlóval, hogy a „jól megszokott” tiszta MDMA-t kapja a pénzéért: az MDMA fokozott üldözése tehát inkább bonyolította, semmint megoldotta a helyzetet (Brunt és mtsai 2011). Finn kutatók ugyanakkor megállapítják, hogy a drog hatása alatti autóvezetés miatt előállítottak vérében kevesebbszer volt detektálható MDPV annak betiltása után, mint előtte, tehát a betiltás ezen a szinten sikeres volt (Kriikku és mtsai 2015). Biztos azonban, hogy mind az előállítók, mind a fogyasztók képesek gyorsan reagálni a törvényi változásokra, vagyis egy adott szer betiltása után hamar egy másik, de hasonló hatású szer kezd elterjedni (Kavanagh és mtsai 2014). Azonban a korábbiak betiltása után felemelkedő új szerek mellett jellemzően a régiek is bizonyos százalékban elérhetőek maradnak, ezzel nehezítve mind a fogyasztók, mind a hatóságok helyzetét (EMCDDA 2017; Beck és mtsai 2018). Ez a macska-egér játék esetleg megszakítható lenne azzal, hogy egy adott szer felbukkanásakor az ahhoz hasonló szerkezetű rokon vegyületek is egyből tiltólistára kerülnének.

1.2. A szintetikus katinonok és a 3,4-metilédioxipirovaleron (MDPV)

A szintetikus katinonok szerkezetileg a katinonra és a metkatinonra hasonlítanak, az előbbi a katcserje (*Catha edulis*) levelének extraktuma (Kalix 1981). A kecskerágófélék (*Celastraceae*) közé tartozó örökzöld növény a X. század óta széleskörűen fogyasztott élénkítő szer a mai Jemen, Szomália, Dzsibuti és Etiópia területén. A levelekben a hatóanyagok legfeljebb két nap után lebomlanak, így a friss levél fogyasztása terjedt el. Mindennapos látvány az említett országok városaiban, ahogy a fogyasztók hosszasan rágcsálják a vidéki ültetvényekről reggel szedett leveleket (Kandari és mtsai 2014).

1.2.1. A szintetikus katinonok és az MDPV elterjedése

A szintetikus katinonok közé, melyek tehát a katcserje hatóanyagának mesterséges származékai, számos vegyület tartozik és ezek száma évről-évre nő (EMCDDA 2018), a legfontosabbakat az 1. ábra foglalja össze.



1. ábra. Az MDMA, a katinon és a fontosabb szintetikus kationok képlete. Az MDMA, vagy más néven Ecstasy, klasszikus kábítószernek tekinthető, melyet 1912-ben szintetizáltak először és a hatvanas években kezdett el rekreációs célra elterjedni (Freudenmann és mtsai 2006; Passie és Benzehöfer 2016). A katinon a kacsérje levelének hatóanyaga, évszázadok óta használt élénkítő szer. A mefedron, a metilon, az MDPV (mely kísérleteink tárgya), a 3-MMC, az α -PVP, a pentadron és a 4-MEC egyaránt a szintetikus kationok közé tartozik, mindegyik amfetaminszerű, stimuláns hatású.

Lefoglalási adatok alapján a szintetikus kationok képezik az új pszichoaktív anyagok második legnagyobb csoportját (az összes lefoglalás 33%-a) a szintetikus kannabinoidok után; 2016-ban az előző évhez képest még emelkedett is a lefoglalt mennyiség (EMCDDA 2018). Az egyes szintetikus kationok elterjedtsége időben és térben állandóan változik, a kérdésre leginkább ország vagy terület-specifikus (többnyire önbevalláson vagy esettanulmányokon alapuló) felmérések illetve a városok szennyvizét elemző vizsgálatok adnak választ. Egy 8 európai városra (Zürich, Milánó, Castellon, Oslo, Koppenhága, Brüsszel, Utrecht, Bristol) kiterjedő vizsgálat szerint a mefedron, a

3,4-metiléndioxi-N-metilketon (metilón, MDMC) és az MDPV volt a három leggyakrabban kimutatott szintetikus katonon a vizsgált szennyvízmintákban (Bade és mtsai 2017). Az ausztráliai Adelaide városában az MDMA eltűnése az illegális drogok piacáról magával vonta új, hasonló hatású szintetikus katononok megjelenését (pl.: mefedron, metilón, MDPV), ez a szennyvízminták elemzése alapján is bebizonyosodott (Chen és mtsai 2013). Egy 10 finnországi városra kiterjedő vizsgálat pedig országon belül is komoly eltéréseket mutatott az egyes amfetaminszármazékok, a kokain és bizonyos szintetikus katononok elterjedésében. A máshol ritkának számító MDPV például Helsinkiben és a DK-finnországi Lappeenranta városának szennyvizében volt jelen nagyobb koncentrációban (Kankaanpää és mtsai 2014). Az említetteken kívül is számos közlemény jelent meg a különböző szintetikus katononok szennyvízben való kimutatásáról, így prevalenciájuk felméréséről (pl.: Causanilles és mtsai 2017). Esettanulmányokon vagy igazságügyi orvostani mintákon keresztül vizsgálva is látható az egyes szintetikus katononok elterjedésében tapasztalható markáns földrajzi különbség. Dél-németországi sürgősségi osztályokra bekerült katononszármazék-használók körében az MDPV és a 3-metilmetketon (3-MMC) használata volt a leggyakoribb (Romanek és mtsai 2017), egy hasonló vizsgálat Svédországban kifejezetten az MDPV elterjedését helyezte a középpontba (Beck és mtsai 2015), majd később a csoport arra jutott, hogy az MDPV mellett más, újabb szintetikus katononok egyidejűleg az illegális drogok piacán maradhatnak (Beck és mtsai 2018). Kérdőíven alapuló felmérés szerint 2014-ben Szlovéniában a három leggyakrabban használt NPS a 3-MMC, a metilón és a mefedron (de az MDPV is jelen van) (Sande 2016). Szintén kérdőíves felmérést közöl egy spanyol kutatócsoport: mintájukban a hallucinogén fenetilaminok és a szintetikus katononok voltak a leggyakrabban bevallott új pszichoaktív anyagok (Gonzalez és mtsai 2013). Igazságügyi orvostani módszerekkel (biológiai minták vizsgálata) Lengyelországban a 3-MMC, az α -pirrolidinopentiofenon (α -PVP) és a pentadron tűnt a leggyakoribb szintetikus katononnak (Adamowicz és mtsai 2016). Egy már idézett finn kutatócsoport elemzésében az MDPV-re koncentrált, de megjegyzi, hogy sok MDPV használó mintája pozitív volt más NPS-re is, például metilónra vagy α -PVP-re (Kriikku és mtsai 2015). Olaszországban pedig a hatóságok által 2013 és 2015 között elkobzott új pszichoaktív anyagok elemzését követően kiderült: a három leggyakoribb NPS a 3-MMC, a 4-metilketon (4-MEC) és az MDPV volt (Odoardi és mtsai 2016).

Magyarországi adatok is rendelkezésre állnak a szintetikus katinonok és azon belül is az MDPV elterjedését illetően. A legfontosabb forrás a Nemzeti Drog Fókuszpont éves jelentése, mely a hatóságok drogfogásaira (ORFK jelentések), az intravénás szerhasználóktól felvett adatokra (pl. tücsere programok résztvevői), kérdőíves felmérésekre alapoz. Hazánkban a szintetikus katinonok 2010 táján jelentek meg, előbb a mefedron, majd egymás után az MDPV, a pentadron a 4-MEC és az α -PHP vált legelterjedtebbé, háttérbe tolva, de nem kiszorítva a többit a piacról (Nemzeti Drog Fókuszpont 2016). Érdekes, hogy az intravénás szerhasználók körében ma már nem a klasszikusnak tartott heroin, hanem a szintetikus katinonok használata a leggyakoribb, azon belül is 2012-ben a pentadron, 2015-ben már az MDPV foglalta el az első helyet (Péterfi és mtsai 2014; Nemzeti Drog Fókuszpont 2016).

1.2.2. A szintetikus katinonok és az MDPV klinikai hatásai

A szintetikus katinonok és maga az MDPV is a hatásaik szempontjából a pszichostimuláns szerek közé tartoznak, mely a legszélésőbb körben használt csoportja a legális és illegális drogoknak. Ide tartoznak a mindennapokból jól ismert koffein, a nikotin, valamint a teobromin és a teofillin (melyek a tea élénkítő hatásáért felelősek). Az illegális szerek között a vegyületcsoport legrégebbi tagját, az amfetamint, illetve származékait a metamfetamint, az MDMA-t és ezek desginer drog „utódait” a szintetikus katinonokat tarjuk számon. Szintén stimuláns hatású a kokain. Pszichostimulánsnak nevezzük azokat a szereket, melyek a központi idegrendszer aktivitását növelik, emelkedett hangulatot (eufóriát) és reakciókészséget, valamint fokozott szellemi teljesítőképességet okoznak (Favroud-Coune és Broers 2010). A pszichostimulánsok tehát a szó eredeti értelmében nem kábítószer, hiszen kábító hatásuk nincsen (sőt, éppen az ellenkezője jellemző), azonban hozzászokást és függőséget képesek okozni, ezért joggal tekinthetjük őket kábítószernek, drognak.

1.2.2.1. A használat akut hatásai

A szintetikus katinonok abúzausa komoly egészségügyi kihívást jelent az Amerikai Egyesült Államokban és Európában is (Carrol és mtsai 2012; German és mtsai 2014). Az egyes szintetikus katinonok hatását emberekre külön-külön nehéz értékelni, hiszen gyakran egymással, vagy más pszichotróp szerekkel (pl. alkohollal) keverve

fogyasztják őket, illetve sokszor a fogyasztó sincs tisztában azzal, hogy pontosan miből és mennyit használt (Regan és mtsai 2011; Leffler és mtsai 2014; Kriikku és mtsai 2015). A fogyasztók által keresett, vágyott hatások közé tartozik az eufória, a növekvő koncentráció és teljesítőképesség, beszédesség, megnövekedett empátia és libidó (Winstock és mtsai 2011; Brunt és mtsai 2011; Schifano és mtsai 2011). Ezek mellett azonban számos mellékhatással is számolni kell. Az MDPV és más szintetikus katinonok humánra való hatásait, különösképpen nem kívánt mellékhatásait illetően sok információ származik sürgősségi és egyéb kórházi osztályokra szintetikus katinon expozíció okán felvett páciensek adataiból. Agitáció, pánikroham, paranoia, hallucinációk, agresszív viselkedés, pszichózis, paresztéziák, izomgörcsök és fejfájás gyakori neuropszichiátriai megnyilvánulásai az MDPV (Adamowicz és mtsai 2011; Spiller és mtsai 2011; Beck és mtsai 2015; White 2016) vagy más szintetikus katinon okozta mérgezésnek (Regan és mtsai 2011; Karila és mtsai 2015; Romanek és mtsai 2017). Az éhség, álmoság megszűnik, ezért nem meglepő módon a szintetikus katinonok a táncos szórakozóhelyek kedvelt kábítószerai (Ross és mtsai 2012). A kardiovaszkuláris hatások közül a tachycardia, a szisztolés és diasztolés vérnyomás emelkedése és a mellkasi fájdalom emelhető ki (Regan és mtsai 2011; Beck és mtsai 2015), de cardiomyopathia és hirtelen szívmegállás is előfordul (Sivagnanam és mtsai 2013; Zaami és mtsai 2018). A szintetikus katinonok a periférián jellemzően vasoconstrictor hatásúak, ez sápadt, hideg, cyanotikus végtagok képében jelentkezik (Wood és mtsai 2011). Laboratóriumi eltérések, úgymint metabolikus acidózis, hypokalaemia, hyperglykaemia szintén előfordulnak (Froberg és mtsai 2015). A legsúlyosabb esetekben rhabdomyolízis, delírium, máj- és veseelégtelenség, ezekből kifolyólag több szervi elégtelenség (Multi-Organ Failure = MOF) jön létre (Beck és mtsai 2015; Valsalan és mtsai 2017). Számos olyan halálos kimenetelű mérgezéses, túladagolós eset ismert, melynek háttérében MDPV abúzus áll (Borek és Holstege 2012; Kesha és mtsai 2013). A súlyos, időnként halállal végződő esetekben gyakori a hyperthermia, bár az MDPV-nek más, hasonló szerekhez képest kevésbé kifejezett ez a hatása (Beck és mtsai 2015; Kiyatkin és mtsai 2015; Zaami és mtsai 2018). Az MDPV klinikai hatásait összefoglalva a 1. táblázat mutatja be.

1. táblázat. Összefoglaló táblázat az MDPV klinikai hatásairól. A táblázat adatai kórházi esettanulmányokból, jelentésekből (lásd a szövegben, különösképpen: Baumann és mtsai 2013b; Beck és mtsai 2015; Froberg és mtsai 2015), néhány összefoglaló jellegű közleményből (Ross és mtsai 2012; Kesha és mtsai 2013) és az interneten megtalálható, a használok tapasztalatait tartalmazó anekdotikus leírásokból származnak (Assi és mtsai 2017). *Russo és mtsai 2012

Stimuláns hatások	Laboratóriumi eltérések
anorexia	arrhythmiák
hyperthermia	akut fázis fehérjék emelkedett szérumszintje
fokozott izzadás	hypokalaemia
tachycardia	metabolikus acidózis
hypertónia	hyperurikaemia
perifériás vasoconstrictio	
mydriasis	Egyéb tünetek/hatások
izomgörcsök	látászavar
álmatlanság	bruxismus
Neuropszichiátriai hatások	collapsus
agitáció, idegesség	mellkasi fájdalom
agresszió	myocarditis
konfúzió	myocardialis infarctus
téveszmék	agyödéma
vizuális hallucinációk	stroke
delírium	májelégtelenség
pánikrohamok	veseelégtelenség
paranoia	légzési elégtelenség
psychosis	nekrotizáló fascitis*
önsértő magatartás	halál
öngyilkossági gondolatok	

1.2.2.2. A használat módjából adódó kockázatok

Mind az MDPV, mind más szintetikus katinonok használata gyakran intravénás injekció formájában történik, ez pedig már önmagában is számos komplikáció forrása (Péterfi és mtsai 2014; Beck és mtsai 2015). A szintetikus katinonok és köztük az MDPV intravénás bevitelével kapcsolatban gyakoriak a lokális fertőzések, tályogok és a cellulitis (Dorairaj és mtsai 2012), esetenként súlyos fertőzések, úgymint endocarditis, pericarditis valamint szeptikus állapot is kialakulhatnak (Belton és mtsai 2013). Régóta ismert, hogy a hepatitis C vírus (HCV) és a humán immundeficiencia vírus (HIV) elterjedése egyaránt összefügg az intravénás szerhasználattal (Garfein és mtsai 1996), a szintetikus katinonok ilyen módon való használatát már lokális járványok kitörésével is összefüggésbe hozták (Katchman és mtsai 2017; Tarján és mtsai 2017). Emellett a szintetikus katinonok stimuláns és eufórikus hatása hozzájárulhat a könnyelmű, kockázatvállaló magatartáshoz, mely a HIV és egyéb vérrel vagy szexuális úton terjedő betegségek átvitelét könnyíti meg (Plankey és mtsai 2007).

1.2.2.3. Krónikus használat

Az MDPV tartós (hónapokon, éveken át való) használatának következményeiről keveset tudunk, ennek egyik oka, hogy a fogyasztók könnyen váltanak a különböző szerek használata között (Kavanagh és mtsai 2014). Az ilyen hosszú ideig szintetikus katinont használók (de nem akután mérgezettek) pszichotikus tünetek, téveszmék és hallucinációk miatt kerülhetnek az egészségügy látóterébe (Dragogna és mtsai 2014).

1.2.2.4. Az MDPV hatása humán terhességre

Szintén kevés adat áll rendelkezésre az MDPV (és általában szintetikus katinonok) terhesség alatti fogyasztásáról és annak a terhességre való közvetlen következményeiről, így elsősorban a hasonló vegyületekkel kapcsolatban leírtakra hagyatkozhatunk. A kátszerje levelének rágcválása korrelál az újszülött alacsony születési súlyával, alacsony APGAR indexszel és méhen belüli retardációval (Hassan és mtsai 2007). Az amfetamin, metamfetamin, MDMA, illetve a kokain abúzus szintén nagy veszélyt jelent a terhességre (Plessinger 1998). Előbbiek várandósság alatti fogyasztását koraszüléssel, méhen belüli növekedési visszamaradottsággal (IUGR), szívfejlődési rendellenességgel hozták összefüggésbe, gyakoribb volt a méhlepény idő előtti leválása, az abruptio placentae (Kuczkowski és Benumof 2003; Phupong és Darojn 2007). Kokaint használó terhes nők körében szintén gyakoribb a koraszülés, az abruptio placentae, a méhruptura, valamint erős vasoconstrictor hatása miatt a kokain csökkenti a méhbe és a placentába kerülő vérmennyiséget ami uteroplacentális elégtelenséghez és magzati hypoxiához vezethet (Mishra és mtsai 1995; Sheinkopf és mtsai 2006). Megjegyzendő, hogy bár az epidemiológiával foglalkozó közlemények megállapítják, hogy a használók többsége férfi, pont a fiatal felnőttek között a leggyakoribb a szintetikus katinonok és az MDPV használata, tehát termékeny korú nők is egyértelműen vannak a használók között (Beck és mtsai 2018; Romanek és mtsai 2017).

A szintetikus katinonok humán terhességre vonatkozó hatását tekintve az irodalom jelenleg legfeljebb esettanulmányokra szorítkozik (Gray és Holland 2014). Olasz és spanyol szerzők írták le egy 4-MEC elvonási tüneteket produkáló újszülött esetét: az említett anyag az édesanya hajából és az újszülött meconiumából is kimutatható volt. Az újszülött nyugtalan, irritábilis volt, magas hangú sírás, spasztikus végtagok és élénk ínreflexek voltak megfigyelhetők, enyhén alacsony születési súly mellett (Pichini és mtsai 2014).

1.2.2.5. Az MDPV és a rokon vegyületek terhesség alatti fogyasztásának hatásai

Jelenleg nem állnak rendelkezésre olyan vizsgálatok sem, melyek kifejezetten az MDPV vagy más szintetikus katinonok potenciális teratogenitását tárgyalják emberben, így itt is a régebbi, részletesebben tanulmányozott pszichostimulánsokra vonatkozó adatokból tudunk kiindulni. Az MDPV-hez hasonló szerek közül elsősorban a

kokain és az amfetaminszármazékok terhesség alatti expozíciójának rövid és hosszú távú hatásait vizsgálták.

A kokain, melynek hatásmechanizmusa nagyon hasonlít az MDPV-jéhez, terhesség alatti fogyasztása számos fejlődési rendellenességgel összefüggésbe hozható (Viteri és mtsai 2015), ugyanakkor kokainra jellemző tünetcsoport, „fetális kokain szindróma” léte nem nyert bizonyítást. A szert használó anyák újszülöttjei körében leírtak végtag deformitást és szövethiányt (van den Anker és mtsai 1991) aminek hátterében a kokain állatkísérletekben is kimutatott erős vasoconstrictor hatása állhat, mely az uteroplacentáris keringés rosszabbodásához vezet (Webster és Brown-Woodman 1990). Egy 20 közleményt vizsgáló meta-analízis arra jutott, hogy az urogenitális fejlődési rendellenességek gyakoribbak, míg a szív fejlődési rendellenességei nem gyakoribbak kokain használó anyák gyermekeinél, mint az azt nem (de más pszichoaktív szereket esetleg igen) használóknál (Lutiger és mtsai 1991). Egy későbbi vizsgálat gyakoribbnak találta a szájpád-hasadék megjelenését az anyaméhben kokain expozíciót szenvedett újszülöttek körében, de más fejlődési rendellenesség kialakulásának esélyét nem találta nagyobbak (van Gelder és mtsai 2009).

Számos tanulmány bizonyítja emellett, hogy a kokain hatással van a megszületett gyermek pszichomotoros, kognitív és mentális fejlődésére, egészségére (Martin és mtsai 2016). Prenatális kokain expozíció után a motorium lassabb fejlődése, ingerlékenység volt látható egy hónapos csecsemőknél (Lester és mtsai 2012). Sok közlemény vizsgálja, hogy vajon van-e összefüggés az óvodás- ill., iskolás kori viselkedési problémák vagy tanulási nehézségek és a prenatális kokain expozíció között, de az eredmények itt sem egységesek. A kokain expozíciót szenvedett gyerekeknél gyakoribb lehet a figyelemzavar (Bandstra és mtsai 2001), károsodhatnak a memória és a tanulás bizonyos elemei (Mayes és mtsai 2007), kimutatták a vizuomotoros koordináció zavarát (Arendt és mtsai 2004) és a korai kognitív funkciók deficitjét (Singer és mtsai 2002). Emellett a vizsgált széles életkori skálán (15 éves korig) viselkedészavarok, úgymint agresszivitás, szabályszegő magatartás, dühkitörések, tombolás gyakrabban volt megfigyelhető ezeknél a gyerekeknél (Savage és mtsai 2005; Dennis és mtsai 2006). A nyelvi készségek zavarát és olvasási nehézségeket pedig serdülőkorúaknál is meg lehetett figyelni, amennyiben a gyermek az anyaméhben kokain expozíciót szenvedett (Landi és mtsai 2017). Más szerzők azonban arra figyelmeztetnek, hogy a prenatális kokain

expozíció csak minimális viselkedésbeli hatással jár a későbbi életkorokban, valamint az eredmények nehezen tisztíthatók meg más befolyásoló faktorok hatásától (egyéb pszichoaktív szerek, különösen alkohol fogyasztása, diszfunkcionális családok, rossz szociális helyzet), melyeknek nagyobb befolyásuk lehet a gyermek fejlődésére (Sood és mtsai 2005; Hser és mtsai 2014).

Egymásnak ellentmondó adatok lelhetők fel az amfetaminszármazékok, különös tekintettel a metamfetamin és az MDMA prenatális fogyasztásának újszülöttre kifejtett hatásairól is (Viteri és mtsai 2015). Egyes kutatók a szívfejlődési és muszkuloszkeletális rendellenességek, például dongaláb, (Skelton és mtsai 2008) vagy ajakhasadék (Milkovich és van der Berg 1977) gyakoribb megjelenését találták metamfetamin vagy MDMA fogyasztó anyák gyermekeinél. Mások azonban nem találtak összefüggést a szerfogyasztás és a kongenitális malformációk megjelenése között (Little és mtsai 1988; Oei és mtsai 2012). Egy amerikai kutatócsoport mágnesesrezonancia-képzéssel (MRI) segítségével vizsgált 3-16 év korú gyerekeket; a prenatális metamfetamin expozíciót szenvedettek néhány szubkortikális agyterülete kisebb volt (putamen, globus pallidus, hippocampus, nucleus caudatus, de a thalamus, kisagy, középgagy nem) emellett rosszabbul teljesítettek a fenntartott figyelmet, verbális vagy hosszú távú térmemóriát vizsgáló tesztekben, noha motoros készségeik nem sérültek (Chang és mtsai 2004). Egy másik csoport pedig 3 és 5 éves korban állapított meg figyelemzavart, a magatartás zavarát (dühkitörések, agresszió) és fokozott szorongási hajlamot (LaGasse és mtsai 2012). Hét és fél éves gyerekek vizsgálata is hasonló eredménnyel zárult (Eze és mtsai 2016). A várandósság alatti MDMA használata a 4 hónapos gyermek motoros és mentális fejlődésében bekövetkezett lemaradásában nyilvánult meg (Singer és mtsai 2012). Ez a lemaradás két éves korban is megvolt, noha a nyelvi készség koruknak megfelelt (Singer és mtsai 2016). Amfetamin használó anyák gyermekei 14 éves korukban is rosszabb iskolai eredményeket produkáltak társaiknál, 78%-ukat nem a biológiai anyjuk nevelt (Cernerud és mtsai 1996).

Nehéz a fenti humán adatokból egyértelmű konzekvenciát levonni. Sem az amfetaminszármazékok, sem a kokain teratogén hatása nem tűnik markánsnak és bár a neuro-pszichoszociális fejlődésre, úgy tűnik, negatív hatással vannak, annak karakterisztikája, esetleges dózis vagy expozíciós időtartam-függése nehezen megállapítható. Ennek egyik lényeges oka az embereken végezhető kísérletek korlátozott

mivolta, másrészt humán követéses vizsgálatok mintavételi nehézségei (Buckingham-Howes és mtsai 2013). Ismert, hogy a metamfetamint vagy MDMA-t használó terhes nők között gyakoribb a dohányzás, az alkoholfogyasztás és az illegális droghasználat, mint a nem használók körében (Ho és mtsai 2001; Palamar és mtsai 2015). E szerek prenatális expozíciója szintén hatással van a fejlődési rendellenességek megjelenésére és a későbbi testi és mentális egészségre (Viteri és mtsai 2015). Továbbá nehéz elkülöníteni a pszichoaktív szerek közvetlen befolyását a gyerekkori viselkedészavarok esetén, hiszen ismert, hogy a negatív élmények, traumák, diszfunkcionális nevelési környezet, rossz szociális vagy anyagi helyzet, bántalmazó kapcsolatok, krónikus betegségek vagy a szülők pszichiátriai betegsége maguk is nagy hatással vannak a gyermek mentális állapotára és fejlődésre (Hertzman 2013). Mai ismereteink szerint a fenti családi és nevelési körülmények fontosabbak a viselkedészavarok és a neuro-pszichoszociális fejlődés szempontjából, mint az *in utero* drogexpozíció (Hser és mtsai 2014; Eze és mtsai 2016).

Figyelembe véve a leírt problémákat (lehetséges teratogén hatás, humán adatok hiánya, ill. nehézén interpretálható volta) a prenatális MDPV expozíció állatkísérletes vizsgálata feltétlenül indokolt, mely módszer lehetőséget ad a kísérleti körülmények megválasztására és a háttérben fellelhető mechanizmusok feltárására is.

1.3. Az MDPV és a rokon vegyületek farmakológiája

1.3.1. Az MDPV farmakokinetikája

Fizikai formájában az MDPV fehér színű, szagtalan por, sok esetben más szintetikus katinonokkal vagy koffeinnel, lidocainnal, benzocainnal keverve érhető el az illegális drogok piacán (Zuba és Byrska 2012). A fogyasztók leggyakrabban az orrukba szippantják, de per os, intravénás, rectalis, sublingualis vagy inhalációs beviteli módja is gyakori (Beck és mtsai 2015; White 2016). Az MDPV pszichoaktív hatásai már nagyon kevés anyag bevételekor is jelentkezhethetnek, a tipikus dózisek 5 és 30 mg közé esnek, bár időnként 50 mg-os vagy nagyobb (kialakuló tolerancia esetén akár 200 mg) adag beviteléről is beszámolnak a fogyasztók. Ezenkívül gyakori az adagok rövid időn belül való ismételt bevétele (Ross és mtsai 2012; Karila és mtsai 2018). Tapasztalatok alapján az MDPV hatása beviteli módtól függően akár néhány perc alatt kialakulhat, a

legerősebben nagyjából 60-90 perccel a bevétel után, majd 3-4 órán át érezhető és 6-8 óra elteltével végleg lecseng (Ross és mtsai 2012).

Az MDPV májbeli metabolizmusáért a CYP2C19, CYP2D6 és a CYP1A2 izoenzimek a felelősek, közülük leginkább a CYP2C19 által katalizált reakció tűnik jelentősnek. Az MDPV lebontásának első lépéseként demetilenil-MDPV keletkezik, mely az anyavegyülettel és más metabolitokkal együtt kimutatható a használok vizeletéből (Meyer és mtsai 2010). A CYP2C19-nek számos, a gyógyászatban használt szer inhibitora, köztük és az MDPV között elképzelhető interakció, noha ezt a kérdést tudományos igényvel még nem vizsgálták. Ugyancsak több információra lenne szükség abban a kérdésben, hogy vajon a citokróm P450 enzimek (CYP) genetikai polimorfizmusa milyen hatással van az MDPV lebontására, léteznek-e ebből a szempontból ún. lassú és gyors metabolizálók (White 2016).

1.3.2. A központi idegrendszeri monoamin rendszer és szerepe az addikcióban

Figyelembe véve a hatás- és szerkezetbeli hasonlóságokat valószínűnek tűnt, hogy a szintetikus katinonok az amfetaminnal, amfetaminszármazékokkal azonos rendszeren, nevezetesen a központi idegrendszeri monoaminerg rendszeren keresztül fejtik ki fent ismertetett hatásaikat (German és mtsai 2014). A monoamin (dopamin, szerotonin (5-HT) és noradrenalin, valamint adrenalin és hisztamin) receptorok közvetlen ingerlésén kívül lehetséges hatásmechanizmusként szóba jön a monoamin neurotranszmitterek szintjének megemelkedése a szinaptikus részben (extracellulárisan). Az extracelluláris monoamin szint növekedéséhez alapvetően kétféle mechanizmus vezet: vagy preszinaptikus oldalról nő a transzmitter kiáramlás, vagy a preszinaptikus elhelyezkedésű monoamin-visszavételért (re-uptake) felelős transzportfehérjék gátlása következik be (German és mtsai 2014).

A dopamin, szerotonin és noradrenalin tartalmú szinapszisok működésének fontos elemei a sejtmembránban található transzportermolekulák, melyek a neurotranszmitter szinaptikus részben található mennyiségét szabályozzák, ezáltal a neuronok közötti jelátvitel erősségét és tartamát befolyásolják (Torres és mtsai 2003). Az egyes transzportereket az elsődleges szubsztrátjuk alapján különböztetjük meg, így dopamin transzporterről (DAT), noradrenalin transzporterről (NET) és szerotonin transzporterről (SERT) beszélhetünk, noha ismert, hogy a DAT és a NET képes dopamint

és noradrenalin egyaránt mozgatni a sejtmembrán két oldala között (Giros és mtsai 1994).

A monoaminerg rendszeren ható drogok jellemzően az említett transzporterfehérjéken fejtik ki hatásaikat. Ebből a szempontból két vegyületcsoportot különböztethetünk meg (Baumann és mtsai 2017). Az első csoportot a kompetitív *inhibitorok* alkotják, melyek a transzporter ortoszerikus kötőhelyén kötődnek és így blokkolják a neurotranszmitterek visszavételét, ezáltal azok koncentrációja a szinaptikus résben tartósan magas marad. A csoport legismertebb képviselője a kokain, de az MDPV is ide tartozik. A *szubsztrátok* közé azok az anyagok tartoznak, melyek szintén az ortoszerikus kötőhelyen kötnek, ám ezután a transzportermolekula csatornáján keresztül a citoplazmába kerülnek ahol az intracelluláris neurotranszmitter készletek kiáramlását idézik elő. A transzportermolekulán való áramlás iránya ilyenkor megfordul, tehát a normális esettel ellentétben a neurotranszmitter a sejtplazmából kifelé áramlik. Ebbe a csoportba tartozik többek között az amfetamin és a legtöbb szintetikus katinon (Baumann és mtsai 2017).

A monoaminerg transzmisszióknak és azon belül a monoamin transzportereknek nagy jelentőséget tulajdonítanak számos kóros állapot és betegség patomechanizmusában, úgymint Parkinson-kór, figyelemhiányos hiperaktivitás-zavar (ADHD), skizofrénia, depresszió (Torres és mtsai 2003) és az addikció, mely természetesen a droghasználat legmarkánsabb következménye.

1.3.2.1. Az addikció neuroanatómiai és élettani alapjai

Az addikció szenvedélybetegséget, negatív függőséget jelent, miszerint az érintett személy bizonyos viselkedésmintákat akkor is követ, ha azok számára vagy környezetére egyértelmű negatív hatással vannak. Az addikció pontos definíciója vita tárgyát képezi, de bizonyos elemek, mint a sóvárgás, elvonás, tolerancia, kontrollvesztés, időszakos kielégülés („temporary satiation”) rendszerint bekerülnek a fogalom meghatározásába (Sussman és Sussman 2011). Gyakran használjuk még az abúzus kifejezést, mely egy adott szernek a társadalmilag vagy orvosilag elfogadottól eltérő használatát jelenti. Az abúzus tehát a szerrel való bármilyen (nem feltétlenül addiktív) visszaélést jelent.

Az addikció neuroanatómiai alapját a **jutalmazási rendszer** agyi központjai és pályái képezik. Utóbbiak közül központi jelentőségű a mezolimbikus dopaminerg pálya, mely a középagy ventralis tegmentalis area-t (VTA) köti össze a ventrobasalis előagggyal, azon belül kiemelendően a nucleus accumbens-szel (Robbins és Everitt 1996; Ikemoto 2007). A VTA dopaminerg neuronjainak optogenetikai módszerekkel történő ingerlése önmagában is elégséges a függőségre jellemző magatartásformák megjelenéséhez (Pascoli és mtsai 2015). Bizonyos drogok közvetlenül hatnak e pálya dopaminerg végződéseire, ilyen az amfetamin, a kokain és a szintetikus katinonok is, míg például az opiátok indirekt módon, a VTA GABAerg interneuronjain keresztül hatnak a mezolimbikus rendszerre (Shabat-Simon és mtsai 2008). A striatum projekciós sejtjei (a közepes tüskés neuronok) emellett a lokomotor szabályozásban részt vevő nigrostriatalis pályán át is kapnak dopaminerg bemenetet, valamint a kéreg felől serkentő, glutamát tartalmú axon-terminálisok végződnek rajtuk. A nucleus accumbens további bemenetei az amygdalából, hippocampusból, thalamusból és a prefrontális kéregből származnak (Hanics és mtsai 2012; Salgado és Kaplitt 2015). A közepes tüskés neuronokon tehát összefutnak a motoros rendszerhez tartozó bemenetek a viselkedés jutalmazás általi megerősítésében részt vevő mezolimbikus pályával (Girault 2012). A nucleus accumbens jelentős kimenetei közé tartozik a lateralis hypothalamus, illetve a ventrális pallidum felé haladó GABAerg pálya (Richard és mtsai 2013). Utóbbi agyterület többek között a thalamusra gátlóan vetít (elsősorban a mediodorzális thalamusra) és fontos szerepe van a jutalmazási rendszer aktivációjakor létrejövő fiziológiás (lokomotor aktivitás, étkezés, anyai viselkedés, különböző tanulással és memóriával kapcsolatos feladatok) és patológiás (drogkeresés) magatartás létrehozásában (Gong és mtsai 1999; Root és mtsai 2015).

Az addikció neurobiológiájában kitüntetett helye van a dopaminnak, erre utal, hogy a függőséget okozó drogok nagy része dopamin felszabadulást vált ki a nucleus accumbensben (Di Chiara és Imperato 1988; Nutt és mtsai 2015). Számos más kísérleti adat utal a dopamin szerepére a jutalmazási és motivációs rendszerben (összefoglaló közlemény: Blum és mtsai 2015), továbbá az egyes dopamin receptor altípusok szerepére a különböző pszichotróp szerek addiktív és viselkedés megerősítő („reinforcing”) hatásában (Le Foll és mtsai 2009). Emellett a ventrális striatum csökkent dopamin-

érzékenységet okozó génpolimorfizmusok az addikcióra való fokozott hajlammal járnak (Davis és Loxton 2013).

1.3.3. A szintetikus katinonok és az MDPV hatásmechanizmusa

Az MDPV *inhibitor*ként viselkedik, blokkolja a DAT és a NET molekulákat, (miközben sokkal kevésbé hat a SERT-en), pontos hatásmechanizmusa tehát jobban hasonlít a kokainéra, mint más szintetikus katinonokéra (Baumann és mtsai 2013a; Simmler és mtsai 2013a; Rickli és mtsai 2015). Az MDPV azonban a kokainnál sokkal potensebb és hatása is hosszabb ideig tart (Cameron és mtsai 2013). *In vivo* mikrodialízissel kimutatták, hogy az MDPV a kokainnál jobban emeli az extracelluláris dopamin-szintet a nucleus accumbensben, emellett a dializátum dopamintartalma 60 perccel az MDPV injekció után is magas maradt, míg kokaininjekció után már 40 perccel visszatért a kiindulási szintre (Baumann és mtsai 2013a). Amperometriás vizsgálatok eredménye szerint az MDPV alacsony koncentrációban (1 nM) képes a DAT-on keresztüli áramlás megfordítására, ami arra utal, hogy az MDPV a koncentrációtól függően többféle hatásmóddal is rendelkezhet (Shekar és mtsai 2017). Az MDPV molekula szerkezeti jellemzői (1. ábra) közül valószínűleg a nagy pirrolidin gyűrű és az α szénatomon található flexibilis propilcsoport a felelős a DAT gátlásáért, a 3,4-metiléndioxi gyűrű ebből a szempontból alárendelt szerepet játszik (Kolanos és mtsai 2013). Az MDPV királis molekula, joggal feltételezhető, hogy az S-MDPV és az R-MDPV nem azonos hatáserősségű. Egy, a kérdéssel foglalkozó közlemény szerint az S-MDPV mintegy 100-szor erősebb inhibitora a DAT-nek, mint az R enantiomer, ugyanígy potensebb gátlószere a NET-nek is (Kolanos és mtsai 2015). Az *in vitro* eredményeknek megfelelően az S-MDPV sokkal kisebb koncentrációban is képes kiváltani lokomotoros aktivációt és önadagolást, mint a racém elegy vagy az R-MDPV (Kolanos és mtsai 2015; Gannon és mtsai 2016). Mindebből következik, hogy az MDPV biológiai hatásáért döntően az S-MDPV a felelős. Érdeemes megjegyezni, hogy a legtöbb szintetikus katinon *szubsztrátként* viselkedik (pl.: mefedron, metilon) és az MDPV-vel szinergista módon, erősen megemelhetik az extracelluláris dopamin szintet (Cameron és mtsai 2013). Ennek azonban *in vivo* jelentősége egyelőre nem bizonyított (Gannon és mtsai 2018a).

1.3.4. Az MDPV általános hatásai állatkísérletekben

A fentieket figyelembe véve, nem meglepő, hogy állatkísérletek is igazolják az MDPV **addikciós potenciálját** és **pszichostimuláns hatását**. Az MDPV patkányokban intravénás (Aarde és mtsai 2013) és intracranialis (Watterson és mtsai 2014) önadagolást vált ki, sőt az állatok által önadagolt szer mennyisége drasztikusan emelkedik, amennyiben hosszabb ideig hozzáférnek, ami a szer iránti tolerancia megjelenésére utal (Watterson és mtsai 2014). Kondicionált hely-preferencia tesztben (CPP) egerek (Karlsson és mtsai 2014; Gannon és mtsai 2017) és patkányok is több időt töltöttek a szerhez társított kamrában (King és mtsai 2015). Az MDPV intravénás önadagolását és a CPP-ben mutatott droggereső magatartást egyaránt attenuálni lehetett a stepholidin nevű szer adagolásával, mely a D1 dopamin receptor agonistája és a D2 dopaminreceptor antagonistája (Hicks és mtsai 2018). Ugyanennek a szernek az adása nem befolyásolta a lokomotor aktivitást (Hicks és mtsai 2018). Drog-diszkriminációs vizsgálatokban a kísérleti állatok nem tesznek különbséget az MDPV, a kokain és más szintetikus katinonok között, de fiziológias sóoldattól megkülönböztetik (Fantegrossi és mtsai 2013). Mindezek az eredmények arra utalnak, hogy az MDPV magas addikciós potenciállal és viselkedést megerősítő hatással rendelkezik. Az MDPV már alacsony dózisban (0,3 mg/ttkg) is lokomotor stimuláns hatású patkányban (Aarde és mtsai 2013; Baumann és mtsai 2013a) és egerben (Fantegrossi és mtsai 2013) egyaránt, ez megakadályozható előzetes SCH23390 kezeléssel, mely anyag a dopamin D1-es receptorának szelektív antagonistája (Marusich és mtsai 2014). A motoros koordináció mérésére használt ún. rotarod (forgó rúd) tesztben azonban az MDPV-nal kezelt állatok nem érnek el rosszabb eredményt kontroll társaiknál. Érdekes eredmény, hogy míg az MDPV kezelt mellett a kokainnal, metamfetaminnal vagy mefedronnal kezelt állatok motoros koordinációja sem rosszabbodott, addig a metilont vagy 3-fluormetkatinont (3-FMC) kapott állatok hamarabb leestek a hossz tengelye körül forgó rúdról (Marusich és mtsai 2012). Akut MDPV injekció hatására gyakoribbá válnak a kényszeres, sztereotip mozgások, úgymint ismétlődő mosakodás, fejkörzés és bólogatás, a környezeti elemek nyalogatása, harapdálása és más repetitív mozgásformák (Marusich és mtsai 2012). Ezek a viselkedésformák stimuláns hatásra és dopaminerg aktivációra utalnak (Randrup és Munkvad 1967). Szintén a vártnak megfelelően, az MDPV emeli a vérnyomást és a szívfrekvenciát is (Baumann és mtsai 2013a). Egy napos házityúk csibe vizsgálatokor

kiderült, hogy az MDPV-vel kezelt állatok több időt töltenek ébren és többet csipegetnek környezetükben, mint a kontroll állatok, valamint szociálisan izolált csibék esetén az MDPV növeli a segélykérő kiáltások (ún. „distress call”) gyakoriságát (Zsedényi és mtsai 2014). Ezek mellett azonban az MDPV, ellentétben a szintén szintetikus katinon butilonnal, nem okoz sem hiperventillációt sem poszturális kontrollbeli zavart (Zsedényi és mtsai 2014).

Egyre több állatkísérletes adat áll rendelkezésre az MDPV **termoregulációt befolyásoló** hatásáról, mely összefüggésben van a külső hőmérséklettel is. Egyszeri MDPV injekció egérben csak magas környezeti hőmérséklet esetén okoz hyperthermiát (Fantegrossi és mtsai 2013; Gannon és mtsai 2018b). Patkánnyal végzett kísérletekben az MDPV ugyancsak növeli az állat testhőmérsékletét (Aarde és mtsai 2013). A testhőmérséklet emelkedése dózis- és időfüggő: nagyobb dózisok jobban emelik. A legmagasabb testhőmérséklet 30 perccel az MDPV injekció után várható és órákig megemelkedett marad, habár az ilyenkor tapasztalható 0,5°C körüli eltérések élettanilag már aligha jelentősek (Horsley és mtsai 2018). A DAT gátló bupropion, a SERT gátló fluoxetin vagy a NET gátló desipramin közül bármelyikkel való előkezelés megakadályozta az MDPV testhőmérsékletet növelő hatását (28°C külső hőmérsékleten), amely különösen a fluoxetin esetén érdekes, ez ugyanis ellentmond annak, hogy in vitro kísérletek alapján a SERT inhibíció nem játszik jelentős szerepet az MDPV hatásában (Gannon és mtsai 2018b). Ugyanebben a vizsgálatban a monoamin neurotranszmitterek szintézisét gátló szerek adása nem befolyásolta az MDPV termoregulációra kifejtett hatását. Mindemellett az sem mindegy a testhőmérséklet emelkedése szempontjából, hogy az MDPV adás után az állatok egyedül vagy csoportosan kerülnek elhelyezésre: a zsúfolt ketrecekben tartott állatok testhőmérséklete meghaladta az azonos MDPV adagok kapott, de egyedül tartottakét (Horsley és mtsai 2018). Miután az MDPV toxicitás egyik fontos aspektusa a hyperthermia (Borek és Holstege 2012; Ross és mtsai 2012), a fenti eredmények felhívják a figyelmet az MDPV (és egyáltalán a szintetikus katinonok) táncos szórakozóhelyeken való használatának fokozott veszélyére, miszerint a zsúfolt és meleg helyiségekben az MDPV testhőmérséklet-emelő hatása még kifejezettebb lehet.

1.3.5. A pszichostimulánsok, a szintetikus katinonok és az MDPV prenatalis expozíciójának hatásai állatkísérletekben

A fentiekben láttuk, hogy az MDPV és a hasonló pszichoaktív szerek prenatalis expozíciója emberben változatos negatív következményekkel járhat, melyek közül néhány (pl.: fejlődési rendellenességek, tanulási nehézségek, emocionális instabilitás) akár az egyén felnőtt életére is befolyással lehet. Nem állnak rendelkezésre állatkísérletes adatok az MDPV vemhesség alatti adagolásának rövid és hosszú távú következményeiről, ezért a hasonló hatású vagy szerkezetű pszichoaktív szereket, nevezetesen a kokaint, az amfetamint és a metamfetamint, továbbá az MDMA-t és más szintetikus katinonokat érdemes megvizsgálnunk ebből a szempontból.

Miután az MDPV és a **kokain** hatásmechanizmusa hasonló, az utóbbi, régóta használt és alaposan tanulmányozott szer prenatalis expozíciójának hatásai jó alapot nyújthatnak arra vonatkozóan, hogy mit várhatunk az MDPV adagolásától ilyen körülmények között.

Számos közlemény számol be a prenatalis kokain expozíciót szenvedett fiatal állatokban megfigyelhető idegrendszeri és viselkedési zavarokról (Martin és mtsai 2016). Egyes leírások szerint károsodhatnak a veleszületett reflexek és viselkedésformák (Kunko és mtsai 1993; He és mtsai 2004), mások azonban nem tudták ezt megerősíteni (Morris és mtsai 1996). A figyelem és a kognitív funkciók zavara emberben is megfigyelhető, így nem meglepő módon több emlősfajban is kimutatták, úgymint rhesusmajomban (He és mtsai 2004), patkányban (Gendle és mtsai 2004) és egérben (Kosofsky és Wilkins 1998). A figyelemzavar hozzájárulhat a prenatalis kokain expozíció által bekövetkezett kognitív deficithez (Romano és Harvey 1998), mely már újszülött állatoknál is bizonyított (Spear és mtsai 1989). Az ilyen állatoknál nehezebben alakul ki a klasszikus kondicionálás (Kosofsky és Wilkins 1998) és lassabban tanulják meg elkerülni az averzív környezeti stimulusokat (Goodwin és mtsai 1992). Fiatal és felnőtt egyedeknél is látható a munkamemória zavara (Inman-Wood és mtsai 2000; Morrow és mtsai 2002), a környezetbe kerülő új vagy megváltozott helyzetű objektumok lassabb felismerése (Salas-Ramirez és mtsai 2010). A szociális viselkedés zavara ugyancsak korán megjelenik a prenatalis kokainnak kitett állatokban: a kölykök jellemzően elveszítik az anya emlőbimbójáért folytatott versengést (Wood és mtsai 1994), kevesebbet játszanak társaikkal (Wood és mtsai 1994; Kabir és mtsai 2014), ráadásul a

szociális interakciók deficitje felnőttkorra is megmarad (Williams és Johns 2014). A szociális viselkedés zavarának egy másik megnyilvánulása, a fokozott agresszió ugyancsak tetten érhető (Goodwin és mtsai 1992). Vemhesség alatti kokain kezelés az utódok motoros funkcióit is befolyásolja: növekszik a lokomotoros alapaktivitás, gyakoribb az ágaskodás (Hutchings és mtsai 1989; Martin és mtsai 2016), valamint az akut kokain (vagy más dopaminerg drog) adásra amúgy is megjelenő motoros és sztereotíp válaszok fokozottan jelennek meg (Kunko és mtsai 1993; Sasaki és mtsai 2014). Ezek mellett számos más viselkedési változásról is beszámol az irodalom, úgymint depressziós és szorongás-szerű magatartás, megváltozott stressz reakciók, a szexuális viselkedés zavara, légzési diszfunkció, göresök, a cirkadián ritmus és az éberségi állapot eltérései (összefoglaló: Martin és mtsai 2016).

Az **amfetamin** vemhesség alatti fogyasztásának hatását már régóta tanulmányozzák. Az első vizsgálatokban használt magas dózisok (50 mg/ttkg) következményei az utódok számának csökkenése, súlygyarapodásuk lassulása és durva kongenitális malformációk (pl szív- és szemfejlődési rendellenességek) lettek, alacsonyabb dózisoknál ezek nem figyelhetőek meg (Plessinger 1998). A **metamfetamin** szintén növeli az abortusz és a koraszülés esélyét, az exponált utódok később nyitják szemüket, súlygyarapodásuk elmarad a kontroll társakétól és gyakoribb a fejlődési rendellenességek előfordulása (Martin és mtsai 1976; Slamberová 2012). A metamfetamin ismertén étvágycsökkentő hatású, a fiatal állatok alacsony születési súlya azonban nem az anya által elfogyasztott kevesebb táplálék következménye (Acuff-Smith és mtsai 1996). Mindezek mellett, a prenatális expozíciónak kitett állatok idegrendszere és annak fejlődése is károkat szenved. A fiatal állatok primitív reflexei lassabbak, motoros koordinációjuk sérült, poszturális reflexeik lassabban fejlődnek ki (Slamberová és mtsai 2006, Pometlová és mtsai 2009). Prenatálisan adagolt metamfetamin valószínűleg rontja az állatok tanulási képességét és kognitív funkcióit, noha ennek mértéke és egyáltalán megjelenése nagyban függ az expozíció idejétől, hosszától és dóziséjától. Például a térbeli tanulást mérő Morris-féle vízi labirintus teszt (MWM = Morris water maze) prenatálisan adott kis és közepes adagoknál nem mutat különbséget (Schutová és mtsai 2009; Macúchová és mtsai 2013), nagyobb adagok (Acuff-Smith és mtsai 1996) vagy más időzítésű expozíció (Hrebicková és mtsai 2016) esetén viszont a kezelt állatok utódai rosszabb eredményt mutatnak. Emellett a tesztben vizsgálható paraméterek sem

egységesen mutatnak különbséget: a prenatális METH expozíciót szenvedett állatok rosszabb eredményt mutatnak, ha a tesztben megtalálható platform helye állandó, de folyamatosan változó helyzetű platform esetén teljesítményük nem rosszabb kontroll társaikénál (Slamberová és mtsai 2005a). Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy az eredményeket jelentősen befolyásolhatja az állat neme és esetleg a nőstények ivari ciklusa (Macúchová és mtsai 2013). Prenatális METH expozíciót szenvedett patkányoknál kimutatták az új objektum felismerés (novel object recognition) zavarát (Fialová és mtsai 2015) és a mérés körülményeitől függően az utódok lokomotoros aktivációjának eltéréseit is (Jablonski és mtsai 2016).

Hasonlóan a fentiekhez az **MDMA** prenatális expozíciója is változatos hatást fejt ki az utódokra. A szer nagyobb dózisú adagolása csökkenti a születésszámot és az utódok testsúlyát (Colado és mtsai 1997), kisebb dózisonál ez nem figyelhető meg (St Omer és mtsai 1991). A korai reflexek és viselkedésformák megjelenését az MDMA lényegesen nem befolyásolta (St Omer és mtsai 1991), 20 perces mérés során a lokomotoros aktivációt növelte (Koprach és mtsai 2003). A kognitív funkciók működéséért felelős agyterületek az intrauterin élet második felében indulnak nagy fejlődésnek: ez az időszak patkányban a születés utáni 1-20. nappal esik, ezért az ezzel a témával foglalkozó közleményekben többnyire neonatális adagolást láthatunk (Skelton és mtsai 2008). A születési után első és tizedik nap között MDMA-t kapott állatok jól teljesítenek a térmemóriát vizsgáló tesztekben, ennek ellenkezője mondható el a 11. és a 20. posztnatális nap között kezelt állatokról, melyek kontroll társaiknál alapvetően rosszabb eredményt érnek el, de ez nagyban függ a választott tesztől (Vorhees és mtsai 2004). A tanulás és a memória deficitjének mértéke és minősége tehát számos tényezőtől függ [például a beadott dózisok időbeli eloszlásától is (Vorhees és mtsai 2007)], de úgy tűnik, hogy bizonyos károsodások (például a térmemória kapcsán) felnőtt állatokban is detektálhatóak maradnak (Skelton és mtsai 2006).

MDPV vagy más szintetikus katinon prenatális expozíciójának hatását állatkísérletekben mindeddig nem vizsgálták, egyetlen kivétellel. Naseri és munkatársai 50 mg/ttkg **mefedron** gesztációs adagolása után megállapították, hogy az utódok csökkent testsúllyal és alacsonyabb számban jöttek világra, gyakoribb volt a halva születés is, valamint 60 napon belül rosszabbul teljesítettek a tér memóriát vizsgáló MWM

tesztben (Naseri és mtsai 2018). Mindezen hatásokat a hippocampus sérülésével hozták összefüggésbe (Naseri és mtsai 2018).

A humán és állatkísérletes adatok tehát egyaránt abba az irányba mutatnak, hogy az MDPV prenatális expozíciója negatív hatással lehet az utódok idegrendszerének fejlődésére, ennek pedig tartós és hátrányos motoros, szociális és kognitív következményei lehetnek az egyedre nézve.

1.3.6. A pszichostimulánsok, a szintetikus katinonok és az MDPV neurotoxikus hatása

Az állatkísérletekben és a klinikai gyakorlatban látott változatos és gyakran veszélyes hatásai miatt felmerül a kérdés, hogy vajon az MDPV-nek van-e cito-, illetve neurotoxikus hatása, és ha igen, hogyan jön létre és milyen sejteket, területeket érint? A pszichostimulánsok klasszikus képviselőiről, az amfetaminről és a metamfetaminről már viszonylag sok közlemény íródott ebben a témában és számos mechanizmus ismert, amelyek a neurotoxicitás hátterében állhatnak. Joggal tételezhetjük tehát fel, hogy az MDPV és más szintetikus katinonok használata is súlyos következményekkel járhat az idegszövet funkcionális és strukturális épségére nézve (Blum és mtsai 2013).

Az **amfetamin és a metamfetamin** neuronokat károsító hatása mögött már számos, egymástól vélhetően nem független mechanizmust kimutattak, köztük neuroinflammációt (Thomas és mtsai 2004; Moratalla és mtsai 2015), oxidatív stresszt (Jiménez és mtsai 2004), mitokondriális károsodást és excitotoxicitást (Halpin és mtsai 2014; összefoglaló: Angoa-Pérez és mtsai 2017). Subcelluláris szinten az amfetamin és a metamfetamin neurotoxikus hatása a dopamin és a szerotonin hosszú távú depléciójában, a tirozin-hidroxiláz (TH) és a triptofán-hidroxiláz 2 (TPH-2) gátlásában, a DAT és a SERT inaktivációjában, a vezikuláris monoamin transzporter (VMAT) funkcióvesztésében, axondegenerációban, valamint a neuronok apoptózisában nyilvánul meg (Kita és mtsai 2003; Cadet és mtsai 2007; Siciliano és mtsai 2014). Ismert, hogy a metamfetamin hosszú távú önadagolása patkányban az objektum felismerő memória (object recognition memory) károsodásához vezet, mely a környezet új tárgyai iránti közömbösségben nyilvánul meg (Reichel és mtsai 2011). A megfigyelés hátterében a metamfetamin esetén a perirhinális és a prefrontális kéreg csökkent metabotrop glutamát receptor 5 (mGLUR5) expressziója állhat (Reichel és mtsai 2011). Emellett a

metamfetamin az említett agyterületeken csökkenti a glutamát 2B alegységet tartalmazó N-metil-D-aszpartát receptorainak (NMDAR) kifejeződését, amelyek pedig az objektum felismerő memória zavartalan működéséhez szükséges szinaptikus tartós depresszió (LTD=long-term depression) létrejöttéhez nélkülözhetetlenek (Scofield és mtsai 2015). Az amfetamin által okozott nagymértékű dopamin felszabadulás, az extracelluláris DA koncentráció időleges növekedéséhez vezet, ilyenkor pedig a DA fokozott oxidációnak van kitéve; oxidált termékei reaktív oxigéngyökként (ROS) viselkedhetnek (Cadet és Brannock 1998), ami mitokondriális diszfunkcióhoz vezethet (Chakrabarti és mtsai 2011). Ehhez hasonlóan az MDMA agyi metabolizmusa is vezethet ROS képződéshez (Moratalla és mtsai 2017), valamint emberben és állatban egyaránt károsíthatja a szerotoninerg és dopaminerg idegvégződéseket (Baumann és mtsai 2007; Capela és mtsai 2009). Az MDMA károsítja a vér-agy gát integritását is (Rubio-Araiz és mtsai 2014).

Mindezek után meglepő is lehet, hogy a **szintetikus katinonok** neurotoxikus hatásai jóval csekélyebbnek tűnnek, noha esetükben kevesebb és kevésbé koherens adatok állnak rendelkezésre. In vitro kísérletben (humán embrió vesesejtekben) sem a mefedron, sem az MDPV, sem a metkatinon nem csökkenti a sejtmembrán integritását, így nem is citotoxikus (Rickli és mtsai 2015). Mefedron nem okozza a striatum dopaminerg végződéseinek károsodását sem: a DA, DAT és TH szintek különböző adagolási sémáknál is állandóak maradnak (Angoa-Pérez és mtsai 2012). A szer nem okoz mikrogliózist és gliális fibrilláris savas protein (GFAP) emelkedést sem (Angoa-Pérez és mtsai 2012, López-Arnau és mtsai 2015). Az oxidatív stressz általi károsodást illetően közvetett bizonyítékok állnak rendelkezésre, miszerint emelkedik a lipid peroxidáció és a glutation peroxidáz szintje mefedron adására (Lopez-Arnau és mtsai 2015). Nikotinnal való együtt adáskor azonban a glutation peroxidáz szintje alacsonyabb, valamint csökken a kataláz aktivitás is a hippocampusban és a prefrontális kéregben, ami a sejtek oxidatív stresszre való ellenálló képességét csökkenti (Budzynska és mtsai 2015). Úgy tűnik, hogy a metilon a kezelés hosszától és a dózistól függően okoz, vagy nem okoz tartós eltéréseket a dopaminerg és szerotoninerg rendszerekben (Lopez-Arnau és mtsai 2014a,b). Egy egészen friss közlemény pedig az ugyancsak szintetikus katinon mefedront vizsgálja és azt találja, hogy a szer ismételt adagolása vemhesség alatt csökkenti a sejtproliferációt és növeli az apoptózis mértékét egér hippocampusában. Ez utóbbi a proapoptotikus BCL-2 asszociált X protein (Bax) gén expressziójának növekedéséből és az antiapoptotikus B

sejt limfóma-2 (Bcl-2) gén expressziójának csökkenésével hozható összefüggésbe (Naseri és mtsai 2018).

Az MDPV-re rátérve azt láthatjuk, hogy meglepően kevés vizsgálat teszi konkrét tárgyává a neurotoxicitás kérdését. Az **MDPV** nem változtatja meg a striatum DA vagy TH tartalmát, sőt, ellentétben a metilonnal és a mefedronnal melyek potenciórozzák, ez a szer inkább attenuálja a metamfetamin által okozott DA és TH depléciót (Anneken és mtsai 2015). Teljesen hasonló módon, az MDPV nem változtatja meg a striatum GFAP expresszióját, de gyengíti a metamfetamin által okozott GFAP emelkedést. Mindebből úgy tűnik, hogy az MDPV neuroprotektív a metamfetamin hatásaival szemben (Anneken és mtsai 2015). Az hatásmechanizmus vélhetően az, hogy az MDPV blokkolja a DAT-ot, így azon keresztül nem jöhet létre a metamfetamin által kiváltott fordított irányú (sejtplazmából kifelé) dopamin áramlás (Simmler és mtsai 2013b). Ismert, hogy az MDPV átlép a vér-agy gáton (Simmler és mtsai 2013a) és jobban dúsul fel az agyszövetben, mint más fontos szintetikus katinonok (Strange és mtsai 2017). In vitro modellben kapott eredményekből pedig arra következtethetünk, hogy a vér-agy gát strukturális károsodását is előidézi az MDPV expozíció (Rosas-Hernandez és mtsai 2016). Sejtkultúrákon végzett kísérletekben az MDPV és annak metabolitjai csökkentették a mitokondriális aktivitást humán neuron (SH-SY5Y), hepatocytá (Hep G2) és felső légúti háms sejtekben (RPMI 2650) is (Wojcieszak és mtsai 2016). A fenti SH-SY5Y neuroblastoma eredetű sejtekben az MDPV apoptózist is kivált. Ennek oka vélhetően a ROS felszabadulás, mely a redukált glutation mennyiségének csökkenéséből és az oxidált glutation mennyiségének egyidejű növekedéséből következtethető ki. A ROS felszabadulás mitokondriális diszfunkciót okoz, mely az intracelluláris adenosin-trifoszfát (ATP) szint csökkenésében, illetve a mitokondriális membránpotenciál eltűnésében érhető tetten (Valente és mtsai 2017a). A sejtekben kimutatható azonban a mitokondriális károsodástól függetlenül aktiválódó proapoptotikus fehérje, a kaszpáz 8 is (Valente és mtsai 2017a). Mi több, az MDPV a szintén apoptózis irányába mutató autofágiás testek megjelenését idézi elő, ez pedig az antioxidáns hatású N-acetil-L-cisztein adásával blokkolható (Valente és mtsai 2017b). Az említett kísérletekben a sejtkárosodást nem lehetett a DAT szelektív inhibitorával megakadályozni, ami újabb jele annak, hogy az MDPV hatásmechanizmusa komplexebb az eddig ismertnél (Valente és mtsai 2017a). In vivo kísérletben konkrét neurodegenerációt egy amerikai kutatócsoport

mutatott ki: patkányokban vizsgálták az MDPV tanulásra és memóriára kifejtett hatását (Sewalia és mtsai 2018). MDPV rohamszerű (binge-like) önadagolása után az állatok térbeli objektum-felismerése (spatial object recognition) nem változott, de az új objektum felismerésük (novel object recognition) rosszabbnak bizonyult. Az így kezelt állatokban FluoroJadeC segítségével neurodegenerációt mutattak ki a perirhinalis és az entorhinalis kéregben, ami magyarázatot adhat a viselkedésbeli változásra (Sewalia és mtsai 2018).

Összefoglalva tehát felettébb valószínű, hogy az MDPV rendelkezik neurotoxikus hatással, noha ennek kiterjedése és megjelenésének körülményei nem tisztázottak. Valószínű, hogy a neurotoxikus hatás nem magyarázható önmagában a hagyományos DAT és NET gátlásra alapuló hatásmechanizmus modellel.

1.4. Az apoptózis folyamata

Az apoptózis a programozott sejthalál egy fajtája, melynek során bizonyos külső (extrinsic) vagy belső (intrinsic) eredetű sejtszignalizációs útvonalak aktiválódása okán a sejt elpusztul. Többsejtű élőlényekben az apoptózis lehet fiziológias vagy patológiás, bizonyos fokú megléte elengedhetetlen a központi idegrendszer normális fejlődéséhez is (Tau és Peterson 2010). A folyamat kulcsmolekulái a cisztein proteázok egy magas specificitással rendelkező családjához tartoznak, melyet kaspázoknak nevezünk (Thornberry és Lazebnik 1998). Hasonlóan sok más proteázhoz, ezek is inaktív formában, zymogénként szintetizálódnak és csak aktiváció után képesek szubsztrátjaikat hasítani (Thornberry 1998). A fehérjecs család tagjait számmal jelöljük és két csoportra osztjuk. Az ún. iniciátor kaspázok a folyamat beindítását segítik elő a beérkező proapoptotikus jelek függvényében azáltal, hogy aktiválják a másik csoport tagjait az ún. effektor kaspázokat (McIlwain és mtsai 2013). Ez a csoport az apoptózis kivitelezéséhez szükséges, az általuk beindított folyamatok [pl. DNS fragmentáció, kromatin kondenzáció, a sejtmembrán feldarabolódása (ún. „blebbing”), a sejt vezikulákká szakadása (ún. apoptotikus testek)] a sejt pusztulását okozzák (Thornberry és Lazebnik 1998). Az effektor kaspázok közé tartozik a kaspáz 3 is (Boatright és Salvesen 2003).

Az *extrinsic úton* való apoptózis iniciációban sejt felszíni, ún. halál ligandok és receptoraik játsszák a fő szerepet. A halál receptorok (DR) a tumor nekrozis faktor (TNF) receptor szupercsaládba tartoznak, aktivációjuk leginkább a sejtek immunrendszer általi

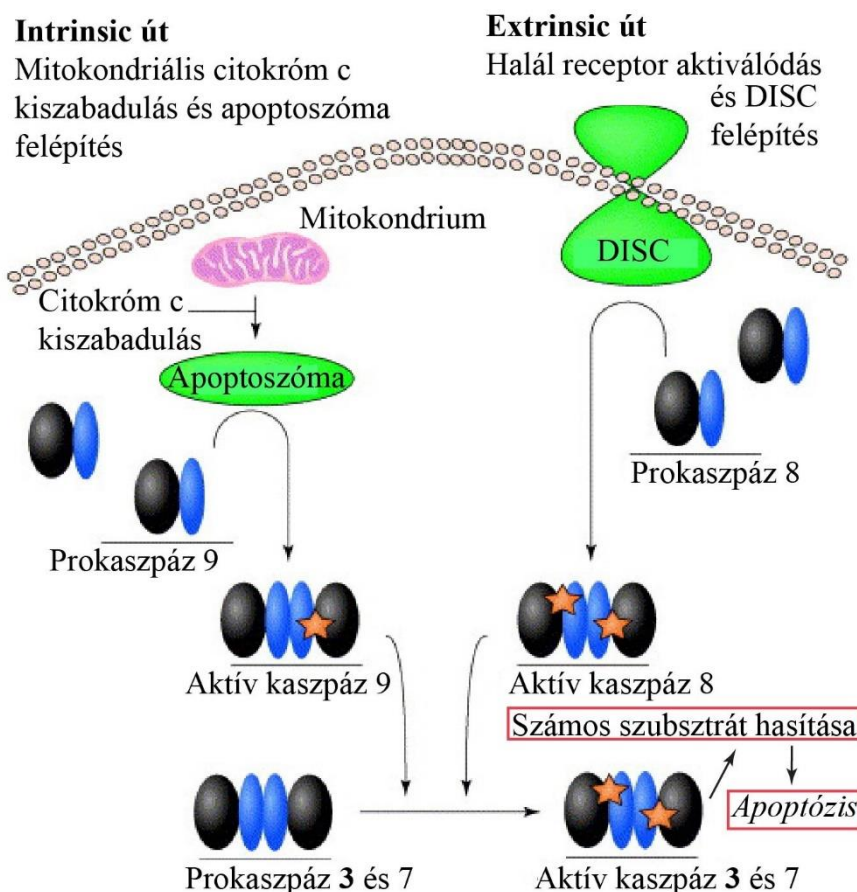
eliminálásában fontos (Ashkenazi és Dixit 1998). A receptorcsalád kiemelt tagja a Fas receptor (First apoptosis signal), mely ligandkötés esetén a DISC (death-inducing signaling complex) felépítéséhez járul hozzá, melynek a kaszpáz 8 és 10 is része (Wajant 2002). Az így aktivált kaszpáz 8 az effektor kaszpázok hasítását végzi.

Az *intrinsic út* aktivációját intracelluláris stresszorok okozzák, például DNS károsodás, oxidatív stressz, excitotoxicitás vagy növekedési faktor hiány (Wu és Bratton 2013; Tiwari és mtsai 2016). A proapoptotikus Bcl-2 fehérjecsald segítségével lyukak nyílnak a mitokondriális membránon (PTP=permeability transition pore), ami depolarizációhoz, továbbá a Bax és a BCL-2 killer (Bak) proapoptotikus fehérjék befelé, míg a citokróm c enzim kifelé történő relokációjához vezet. Ez utóbbi az Apaf-1 oligomerizációját segíti, mely egy kaszpáz aktiváló komplexszé, az ún. apoptozómává alakul (Wu és Bratton 2013). Az apoptozóma hasítja a prokaspáz 9-et, a kaszpáz 9-nek pedig a prokaspáz 3 a szubsztrátja (Bratton és Salvesen 2010).

1.4.1. A kaszpáz 3 szerepe az apoptózisban

Az aktivált kaszpáz 3 többek között gátolja az antiapoptotikus fehérjéket, például a XIAP-t (X-linked inhibitor of apoptotic proteases), képes autofagocitózist indukálni, aktiválja a DNS fragmentációt végző enzimeket és egyáltalán az apoptózis morfológiai és funkcionális változásait végrehajtó fehérjék jelentős részét (Earnshaw és mtsai 1999; Denault és mtsai 2007; Lüthi és Martin 2007; Wu és mtsai 2014;).

A kaszpáz 3, mint az apoptózis extrinsic és intrinsic útjának találkozási pontja (**2. ábra**) alkalmas arra, hogy a programozott sejthalált szenvedő sejteknek mintegy markere legyen (Salvesen 2002), mivel az enzim erőteljes aktiválódása egyértelműen a sejt pusztulásához vezet (Snigdha és mtsai 2012).



2. ábra Az effektor kaspázok, köztük a kaspáz 3 aktiválódása és az apoptózis két fő útja. A zymogénként szintetizálódó kaspázok egy kisebb és egy nagyobb alegységből állnak és aktivációjukkor dimerizálódnak. Az aktív dimer kötőhelyeinek száma egy vagy kettő (csillaggal jelölve). A kaspáz 3 és 7 szubsztrátjainak részletes leírása: Earnshaw és mtsai 1999. Az eredeti ábra forrása: Boatright és Salvesen 2003.

Mint fentebb láttuk, a pszichostimulánsok apoptotikus hatásában valószínűleg a ROS felhalmozódás miatti mitokondrium-károsodásnak jut kiemelt szerep, az apoptózis iniciációjának számtalan módja közül ez tűnik a legfontosabbnak. Az oxidatív stressz és a mitokondrium kapcsolata nagyon komplex, hiszen a ROS legfőbb forrása éppen a mitokondrium, ám az előbbi számos támadásponton károsíthatja az utóbbi működését (összefoglaló: Chakrabarti és mtsai 2011), ez pedig apoptózishoz vezethet.

1.5. Az anyai adaptáció és az utódgondozó viselkedés

1.5.1. Az anyai adaptáció és viselkedés, valamint zavarai emberben

Anyai adaptációnak nevezzük mindazokat a folyamatokat, amelyek a női szervezetben az embrió, ill. magzat sikeres kihordásának, később a megszületett utód sikeres felnevelésének érdekében végbemennek. E fogalmon belül pedig anyai viselkedés alatt azokat a magatartásbeli elemeket értjük, melyek az utódok felnevelését szolgálják. Az anyai viselkedést kétirányú, anya és gyermek közötti interakciók határozzák meg, az egyikben bekövetkezett zavar szükségszerűen hat a másikra is. Az anya és gyermeke közti kötődés, mely az anya által nyújtott biztonságon és védelmen alapszik, gyengesége, károsodása negatívan hat a gyermek szociális, kognitív és motoros (ezen belül például nyelvi) fejlődésére (Grace és mtsai 2003)

Ennek megfelelően a terhesség alatti drogfogyasztás is hosszú távú, komoly következményekkel járhat az anya-gyermek kapcsolatot illetően (Williams és Johns 2014). Különösen a (később ismertett) bőséges állatkísérletes eredmények fényében lehet meglepő, hogy mégis milyen kevés humán vizsgálat teszi tárgyává a terhesség alatti kábítószer-használat és az anyai viselkedés kapcsolatát, ilyen vonatkozásban a szintetikus katinonokról és az MDPV-ről jóformán semmit sem tudunk. Emiatt a régebben ismert pszichostimulánsokból érdemes kiindulunk, közülük legszélesebb körben a kokaint, ill. a kokain használó anyák viselkedését vizsgálták.

Az anyai kokainhasználat összefügg a gyerekek elhanyagolásával, bántalmazásával és egyáltalán az anya-gyermek kapcsolat gyengeségével (Burns és mtsai 1991; Kelley és mtsai 1991). A várandósságuk alatt kokaint fogyasztó anyák kevésbé figyelnek csecsemőjükre és passzívabbak az anya-gyermek interakciókban (Minnes és mtsai 2005). Gyakrabban okoz nekik nehézséget a gyermek táplálása: rövidebb ideig tart egy-egy szoptatási alkalom, az anyák rugalmatlanabbak, türelmetlenebbek gyermekükkel ilyen helyzetekben (LaGasse és mtsai 2003). Később is türelmetlenebbek, többször alkalmaznak fizikai fegyelmezést és könnyebben válnak ellenségessé kisiskolás korú gyermekeikkel szemben (Johnson és mtsai 2002). Számos tanulmány azonban nem talált összefüggést a terhesség alatti kokainhasználat és az anya-gyermek kapcsolat minősége között (Neuspiel és mtsai 1991; Ukeje és mtsai 2001). Az ellentmondásos eredmények oka lehet a vizsgálatok eltérő minta-elemszáma, a mintavételi csoportok heterogenitása,

a vizsgálatok időzítése vagy más pszichoaktív anyagok szimultán használata (Eiden és mtsai 2011). Már csak a hiányos és rendkívül variábilis humán adatok miatt is szükséges a téma vizsgálata könnyebben tanulmányozható, objektív és jól reprodukálható állatmodelleken.

1.5.2. Anyai adaptáció és viselkedés rágcsálókban

Az anyai viselkedés jellemzői és annak szabályozása meglehetősen hasonló az emberben és a legtöbb emlősfajban, ezért ha nem vesszük figyelembe az egyértelműen fajspecifikus tulajdonságokat és képességeket (pl. az emberi beszélt nyelv), akkor az anyai viselkedéshez kapcsolódó reflexek és válaszok állatkísérletes vizsgálatának eredményei jól interpretálhatóak emberre (Lonstein és mtsai 2015).

Az anyai viselkedés rágcsálókban legerősebben a szülés pillanatától jelentkezik, noha már a pubertástól indukálható, és bizonyos aspektusai a vemhesség alatt is megjelennek (Bridges 2015). Ilyen például a védelem céljából való fészeképítés és a kölykök szaga iránt mutatott preferencia (Lisk és mtsai 1969; Olazabal és mtsai 2013).

A születéskor megjelenő jellegzetes viselkedés a **placenta és a magzatvíz elfogyasztása**, mely egyszerre szolgálja a kimerült anyaállat regenerációját és a ragadozók számára potenciálisan attraktív szagok eltávolítását (Bridges 2015). Az éppen megszületett kölyköket az anya rendszerint azonnal **ingerelni, tisztogatni** kezdi (Bridges 2015).

Születést követően is folytatódik az utódok **nyalogatása, tisztogatása**, mely különösen fontos az anogenitális régióban. A kölykök e testtájékának ingerlése segíti azok vizelet- és székletürítését, maga a vizelet pedig hozzájárul az anya Na⁺ beviteléhez (Gubernick és Alberts 1983). A kölykök vizelete emellett az anyai viselkedést fokozó stimulusként is hat (Londei és mtsai 1989). A kölykök fészekbe való **visszavitele** azok védelmét és testhőmérsékletük fenntartását szolgálja, hasonlóan az utódok **főlé görnyedéshez**. A szoptatáshoz nyugodt, esetleg mozdulatlan testhelyzet szükséges, így a lehető legtöbb utód fér hozzá az anya emlőjéhez és bekövetkezhet a tejejekció is (Stern és Johnson 1989). A fent már említett **fészeképítés** (melyhez állatházi körülmények esetén fészekanyag biztosítandó) szintén az utódok védelmét, elrejtését szolgálja. A fészeképítés már a vemhesség alatt vizsgálható: egéranyák a vemhesség 4.-5. napjától kezdik mutatni ezt a viselkedést, melyen feltétele a magas progeszteron/ösztrogén arány (Lisk és mtsai

1969; Lisk 1971). A szülést követően megjelennek a kölykökhöz közvetetten kapcsolódó viselkedésformák is, ezek egyike az **anyai agresszió**, mely a betolakodók ellen irányul (Bosch 2013). Ennek megnyilvánulása komplex, egyszerre offenzív (fizikai támadás, harapás) és defenzív (ágaskodás, piloerekción) (Lonstein és Gammie 2002). Az anyai adaptáció további jellemzője a **fokozott táplálékfelvétel** és leptin rezisztencia, melyet a laktáció miatti negatív energiaegyensúly magyaráz (Xu és mtsai 2009). Végül a **csökkent stressz reakció** és az ennek következményeként kialakuló fokozott explorációs aktivitás említhető az anyai viselkedés fő megnyilvánulásai között (Brunton és mtsai 2008; Hasic és Misztal 2018).

1.5.3. Az anyai viselkedés szabályozásának alapjai

Az anyai viselkedés szabályozása a neuroendokrin rendszer és bizonyos agyterületek összehangolt működésén alapszik, tehát számos hormon, környezeti tényező és inger befolyásolja (Bridges 2015). A hormonok, melyek termelődhetnek az agyalapi mirigyben vagy a periférián, a központi idegrendszerre (mindenek előtt a hypothalamusra) visszacsatolva hatnak, és mintegy beállítják az anyáknak a kölyök által adott stimulusok itánti érzékenységét (Bridges 2015).

Az anyai adaptáció konkrét viselkedésbeli megnyilvánulásait idegi folyamatok szabályozzák, melyek a legkülönbözőbb szenzoros bemenetek hatása alatt állnak (Olazabál és mtsai 2013; Dulac és mtsai 2014).

1.5.3.1. Idegi, szenzoros hatások

Számos állatfaj esetén a **szaglásnak** domináns befolyása van az anyai adaptációra (Levy és Keller 2009). Nullipara állatok esetén az olfactoros rendszer gátolja az anyai viselkedést, a nőstény állat elkerüli a kölyköket (Levy és mtsai 1983). A szaglási információ a bulbus olfactoriusok (OB) projekciós sejtjeiből a ventromedián hypothalamuson (VMH) és a mediális és kérgi amygdala magokon át a hypothalamicus régiókba, úgymint a nucleus hypothalamicus anteriorba, a nucleus interstitialis striae terminalisba (BNST) és a mediális preoptikus areába (MPOA) jut, utóbbi az anyai viselkedés egyik legfontosabb központja (Corona és Levy 2015). A mediális amygdala elektromos stimulációja gátolja az MPOA idegsejtjeit, késleltetve ezzel az anyai viselkedés kifejeződését (Morgan és mtsai 1999). Valószínű, hogy a mediális amygdala

substantia grisea centralisba (PAG) futó projekciói is szerepet játszanak a szűz nőtények kölykökre adott elkerülő magatartásban, ennek későbbi MPOA felőli gátlása csökkenti ezt az elkerülő magatartást (Levy és Keller 2009; Bridges 2015). A vemhesség során ugyanis a kölykökhöz kapcsolódó szagok egyre vonzóbbá válnak és emiatt szülést követően kialakul az utódokról való gondoskodás (Corona és Levy 2015). A szülés körül tehát gátlódnak a szaglórendszer felől érkező inhibitoros információk, diszinhibíció következik be, melynek hatására megszűnik a kölykökre irányuló averzió (Corona és Levy 2015). Ez a szülés körüli markáns változás a kölykök szagingereire vélhetően oxitocin hatás eredménye, mely közvetlenül is képes hatni az OB mitrális (projekciós) sejteire (Yu és mtsai 1996).

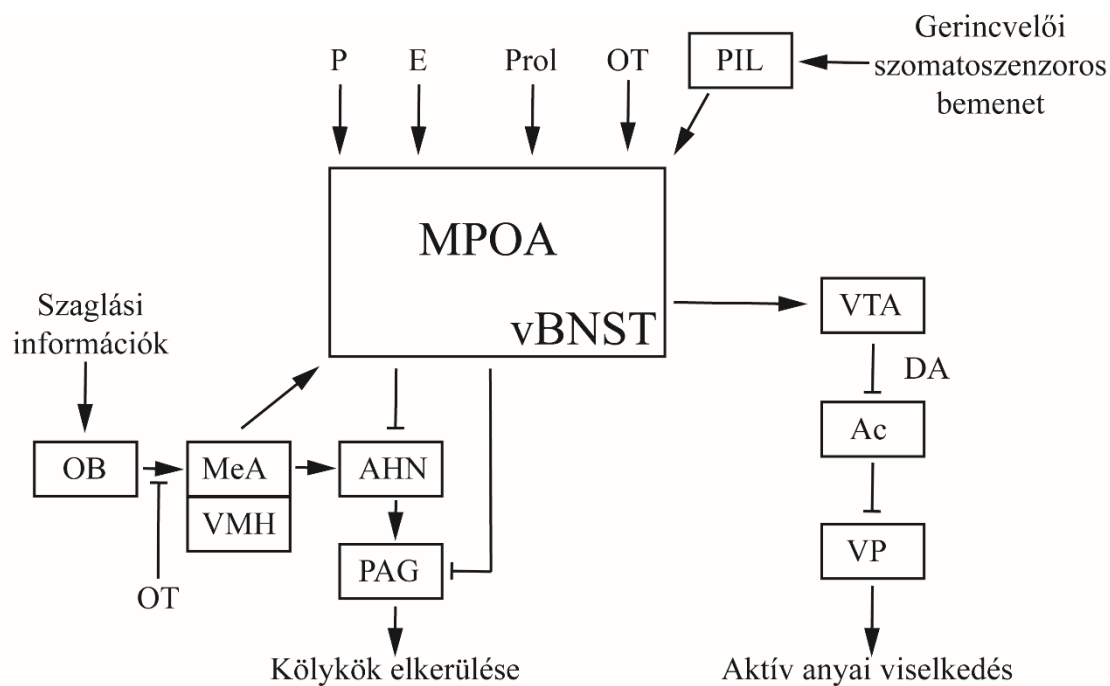
A **hallási** ingerek szintén komoly befolyással bírnak az anyai viselkedésre: az utódok sírása, ultrahangos vokalizációja stresszhelyzetben jelenik meg, mint amilyenek a hideg vagy a fészek elhagyása (Kromkhun és mtsai 2013). A kölykök sírására fokozott aktiváció lép fel a mezolimbikus dopaminerg pályarendszer, valamint az elülső insula és a prefrontális kéreg területén. Előbbi az empátia megjelenésért, utóbbi a sírás által mindkét szülőben kiváltott negatív érzelmi válaszokért felel (Rilling és Young 2014).

A **szomatoszenzoros** ingerek a tejelválasztás, a tejejekció és az anyai motiváció létrejöttében töltenek be nagy szerepet (Yeo és Keverne 1986), ennek központja pedig a thalamus posterior intralamináris komplexe (PIL), mely gerincvelői bemenetekkel rendelkezik (Cservenák és mtsai 2010, 2013). A PIL projekciós sejtei a nucleus arcuatuson keresztül prolaktin elválasztásra, míg az MPOA-n való kapcsolatukkal az anyai motivációra hatnak, ahogy ezt a későbbiekben még kifejtjük.

Emberben a **látás** fontos szerepére utal, hogy funkcionális MRI (fMRI) vizsgálatok tanúsága szerint a mezolimbikus dopaminerg rendszer aktiválódik a szülők gyerekeit mutató képek és videók nézésekor, ráadásul a VTA és az orbitofrontális kéreg aktivációjának mértéke összefüggésben van a pozitív szülői attitűdökkel (Rilling és Young 2014). Még nem szült nőkben is aktiválható a nucleus accumbens kisbabák képei hatására, ennek mértéke pedig azzal áll arányban, hogy a kép mennyiben mutatja egy kisbaba arcának jellegzetes vonásait, röviden: mennyire „aranyos” (Glocker és mtsai 2009; összefoglaló: Rilling 2013).

Az anyai viselkedést szabályozó neurális hálózatok fő központja a MPOA és a hozzá kapcsolt ventrális BNST (Numan 2007; Bridges 2015). A terület sérülése

megszünteti az anyai viselkedést, nem csak annak közvetlen megnyilvánulásait, hanem a kölykök viselkedés-megerősítő (jutalom) szerepét is (Numan 1986; Lee és mtsai 2000). Az MPOA/vBNST továbbá c-Fos expressziót mutat anya-kölyök interakciókor (Stack és Numan 2000). Az MPOA idegsejtjein található ösztrogén, progeszteron és prolaktin receptorok is; ösztradiol vagy placentális laktogén hormonok MPOA-ba juttatása pedig stimulálja az anyai viselkedés megjelenését (Numan és mtsai 1977; Numan és Stolzenberg 2009). A MPOA tehát fogadja és feldolgozza az anyai viselkedést befolyásoló hormonális és szenzoros bemeneteket, majd az elkerülő magatartás gátlása mellett, a jutalmazási rendszeren keresztül lehetővé teszi a proaktív motoros válaszok megjelenését is (3. ábra).



3. ábra. Az anyai viselkedés szabályozásának áttekintése. Az anyai viselkedés központjának a mediális preoptikus area (MPOA) és a ventralis bed nucleus of stria terminalis (vBNST) funkcionális kettősét tartjuk, ugyanis ide konvergálnak a hormonális és szenzoros bemenetek. Nullipara nőstények esetén a szaglási ingerek a bulbus olfactorius (OB), mediális amygdala (MeA), ventromedialis majd anterior hypothalamus (VMH, AHN), periaqueductalis szürkeállomány (PAG) útvonalon a kölykökkel szembeni elkerülő magatartást indukálják. Szülés környékén a megváltozott hormonális státusz (P - progeszteron, E - ösztrogének, Prol - prolaktin, OT - oxitocin) hatására az MPOA gátolni képes a fenti motoros kimenetet. Anyai viselkedés indukációjakor az MPOA sejtjei a ventrális tegmentális areára (VTA) hatva felszabadítják a

ventralis pallidumot (VP) a nucleus accumbens (Ac) gátlása alól, lehetővé téve így az anyai viselkedés (pl. fészeképítés, utódvisszahordás) aktív kifejeződését. A hegyes nyilak serkentő, a talpas nyilak gátló kapcsolatot jelentenek. Az ábrán látható információk forrása: Yu és mtsai 1996, Numan 2007, Numan és Stolzenberg 2009, Olazabál és mtsai 2013, Corona és Lévy 2015. További rövidítések: PIL – posterior intralamináris komplex (thalamus), DA – dopamin.

1.5.3.2. *Hormonális hatások*

Emlősök esetén vemhesség alatt bekövetkezik a különböző hormonok szekréciójának változása, mely az anyai viselkedés kialakulását, megjelenését segíti. Az **ösztrogének** legfontosabbika, az ösztradiol-17 β (E₂) szintje a vemhesség elején és közepén lassan, majd utolsó szakaszában gyorsan emelkedik, laktáció alatt lecsökken (Kinsley 1994; Bridges 2015). A **progeszteron** szintje hamar növekedésnek indul, tartósan magas marad, majd a vemhesség végén csökken (Morishige és mtsai 1973). Az ösztrogének és a progeszteron emelkedett szintje felkészíti a méhet a beágyazódásra és segíti a placenta fejlődését, míg a prolaktin a tejtermelést fokozza, emellett azonban mindhárom említett hormon az anyai viselkedésben is jelentős tényező. Az ösztrogének fontos szerepét mutatja, hogy ösztrogén receptor- α kiütése vagy csendesítése eltünteti az anyai viselkedést (Ribeiro és mtsai 2012), ösztrogének adása pedig indukálja azt (Numan és mtsai 1977). A progeszteronnak két anyai viselkedéssel kapcsolatos funkciója ismert: egyrészt vemhesség alatt érzékenyíti az agyat kölykök felől később érkező ingerekre, másrészt időben beállítja ennek az emelkedett válaszkészség létrejöttét (Bridges 2015). A fenti két szteroid hormon hatására (az anyai viselkedés adott időben való megjelenésére) permisszíven hat a **prolaktin** (Bridges és Ronsheim 1990; Brown és mtsai 2017). Prolaktin antagonist infúziója a hypothalamus mediális preopticus areába szteroidok adása mellett is késlelteti az anyai viselkedés megjelenését (Bridges és mtsai 2001). Hasonló szerepet játszanak a prolaktinra szerkezetileg nagyon hasonlító **placentális laktogének**, melyek nullipara nőstényeknek szteroidokkal együtt adva, de mindeközben akár a prolaktinszekréciót bromokriptinnel gátolva, csökkentik az anyai viselkedés megjelenésének latenciáját (Bridges és mtsai 1996).

1.5.3.3. Neuromodulátorok és neurotranszmitterek hatásai az anyai adaptációra

Az anyai viselkedés kialakulásában a fenti hormonok mellett klasszikus neurotranszmitterek, neuropeptidok és egyéb neuromodulátorok is szerepet játszanak, ezek közül a fontosabbakat tekintjük át.

A hypothalamus supraopticus (SON) és paraventriculáris magja (PVN) által termelt **oxitocin** ösztrogénhiányos szűz patkányba juttatva is anyai viselkedést indukál (Pedersen és mtsai 1982), míg az oxitocin antagonistája a kölykökhöz közvetlenül kapcsolódó magatartásformák megjelenését gátolja (Pedersen és Boccia 2003). Az oxitocin az MPOA-n és a VTA-n keresztül hat az anyai viselkedésre (Pedersen és mtsai 1994), szerepe van az anya-gyermek kötődés és a csökkent stresszreakció megjelenésében (Gimpl és Fahrenholz 2001). Mindemellett a **vazopresszinnel** együtt kiemelt szerepe van az anyai agresszió létrehozásában (Bosch és Neumann 2012; Bosch 2013).

A **tuberoinfundibuláris peptid 39** (TIP39) a kettes típusú parathormon receptor (PTH2R) endogén ligandja, mely a nucleus arcuatus (Arc) területén részt vesz a szopás-indukált prolaktin felszabadulásban (Cservenák és mtsai 2010), a paraventriculáris hypothalamus magban (PVN) az oxitocin felszabadulásban (Cservenák és mtsai 2017) és az MPOA-ban az anyai motiváció kialakulásában (Cservenák és mtsai 2013; Dobolyi és mtsai 2018). Azok a TIP39 expresszálo sejtek, melyek erre a három területre vetítenek, a thalamus posterior intralamináris komplexében (PIL) találhatóak (Dobolyi és mtsai 2003). A PIL bemenetet kap a nucleus cuneatusból és gracilisból, melyek a gerincvelői hátsókötél - lemniscus medialis szomatoszenzoros pálya átkapcsoló magjai, emellett vélhetően közvetlen tractus spinothalamicus eredetű kollaterálisok is eléri (Cservenák és mtsai 2017). A taktilis információkon kívül erős akusztikus stimuláció hatására is növekszik a PIL (és más területek) TIP39 expresszálo sejtjeinek aktivitása, mely így a kölykök vokalizációját a hypothalamus felé közvetítheti (Palkovits és mtsai 2009). A PIL TIP39 pozitív sejtjeinek c-Fos expressziója tehát megnövekszik szoptatáskor, ilyenkor maga a TIP39 expresszió is megnő, a bazális és a szoptatás indukálta prolaktinszint-emelkedés pedig a mediobazális hypothalamusba adott PTH2R antagonistával kivédhető (Cservenák és mtsai 2010, 2013). A tejtermelés mellett az anyai motiváció szabályozásában is fontos szerepe lehet a TIP39-nek. A PIL-ből származó TIP39 pozitív rostok preoptikus területen való eloszlása azonos a kölykök hatására c-Fos aktivációt

mutató sejtekével, és bizonyított, hogy az előbbi rostok az utóbbi neuronokon végződnek (Cservenák és mtsai 2013). Ha a preopticus area PTH2R-ai gátlás alá kerülnek, akkor az anyaállatok CPP-ben csökkent preferenciát mutatnak az utódok felé, mely az anyai motiváció zavarát jelenti (Cservenák és mtsai 2013). Összességében tehát a TIP39-PTH2R rendszer valószínűleg a szopási reflex felszálló útvonalának átkapcsolódási pontja: a mechanoreceptorokból jövő információt az Arc és az MPOA felé továbbítja, mely utóbbi összeköttetés az anyai adaptáció agyi szabályozásába kapcsolja be a (szomato)szenzoros információkat (Dobolyi és mtsai 2018). Mivel a TIP39-PTH2R rendszer neuroanatómiailag nagyon hasonló rágcsálóban és emberben, így vizsgálata az utóbbi vonatkozásában is releváns (Bagó és mtsai 2009).

Szintén neuromodulátor funkciót tölt be a központi idegrendszeri **amylin**. A 37 aminosavból álló peptid perifériás termelődését és hatásait sokat tanulmányozták, legjobban az inzulinnal egyszerre felszabaduló, hasnyálmirigyből származó amylin ismert, mely anorexigén hatású (Lutz 2006). Az agyban az amylin jelen van a preopticus areában, az amylin mRNS mennyisége a szülést követően nő meg és a kölykök jelenléte alatt magas marad (Dobolyi 2009). Ehhez hasonlóan az amylin immunreaktivitás is szülés után nő meg, a peptid eloszlása pedig a magon belül azonos az mRNS-ével. Az amylin indukciója bekövetkezik nem laktáló, de anyai viselkedésre szenzitizálódott (fészket építő, kölyköket visszahordó, tisztogató) szűz nőtényekben is, sőt ovariectomia sem gátolja azt, így az indukció feltehetően független a szexuálszteroidok jelenlététől (Szabó és mtsai 2012). Szeparáció után, ha a kölyköket az anyaállat visszakapja, az amylin neuronok döntő többsége c-Fos aktivitást mutat (Szabó és mtsai 2012). Az aktivált preopticus neuronok az anyai magatartást szabályozó területekre vetülnek, melyek közül többnek (pl. BNST, amygdala, VMH, Arc, PAG) a sejtjei rendelkeznek az amylin receptorával (Numan és Numan 1997; Becskei és mtsai 2004). Az amylin és a TIP39-PTH2R neuromodulátor rendszer anatómiai és funkcionális kapcsolatban van. Ezt bizonyítja, hogy a TIP39 és PTH2R tartalmú rostok az amylin neuronokkal megegyezően helyezkednek el a preopticus areában és az amylin neuronok a TIP39 terminálisok közvetlen közelében találhatóak (Dobolyi és mtsai 2006; Szabó és mtsai 2012). PTH2R hiányában pedig az amylin mRNS szintje erőteljes csökkenést mutat (Szabó és mtsai 2012). Ezekből következik, hogy az amylin sejtek aktivációja a szopási információt közvetítő PIL-beli TIP39 sejtek révén is megvalósulhat, és ezáltal is érvényesülhet a

TIP39 hatása az anyai viselkedésre (Dobolyi 2011). Funkcióját tekintve az amylin az anyai adaptációval megjelenő antidepresszív állapot megjelenésében játszhat szerepet (Szabó és mtsai 2012).

A neuropeptidek közül bizonyított továbbá a **kolecisztokinin**, a **tachykininek** és a **galanin** szerepe is az utódgondozás szabályozásában (összefoglaló: Bridges 2015).

A neurotranszmitterek közül kiemelt fontosságú a **dopamin** (Olazabál és mtsai 2013), mely az utódgondozás megjelenésében és fenntartásában egyaránt nagy szerepet játszik (Hansen és mtsai 1991; Numan és mtsai 2005a). Szoptatás hatására aktiválódik a dopaminerg jutalmazási rendszer (Ferris és mtsai 2005), olyannyira, hogy a nucleus accumbensben felszabaduló DA mennyisége az anya-kölyök interakciók számával arányos (Champagne és mtsai 2004). A DA hatása az egyes típusú dopamin receptoron (D1) keresztül valósul meg (Stolzenberg és mtsai 2007) és ez a stimuláló hatás leginkább az anyai motivációval összefüggő viselkedésformákra hat, úgymint az utódok tisztogatása és fészekbe hordása (Numan és mtsai 2005a). A mezolimbikus DA rendszer a bejövő szenzoros és hormonális ingereknek megfelelően változtatja az anyai motivációt és lehetővé teszi annak a viselkedésben való megnyilvánulását (Numan és Stolzenberg 2009), itt tehát a kölyök mintegy jutalmazó ingerként szerepelnek (Bridges 2015).

A **noradrenalin** és a **szerootonin** is vélhetően szerepet játszik az anyai viselkedésben, utóbbi teljes hiánya legfőképpen a kölyök visszahordását gátolja (Bridges 2015; Alenina és mtsai 2009).

Vizsgálták továbbá az **opioidok** hatását is az anyai viselkedésre: stimuláló hatások (Panskepp és mtsai 1994) mellett gátlóakat is kimutattak (Bridges és Grimm 1982). Az MPOA-ba való morfin beadás az anyai viselkedést gátolta, míg az opiát antagonistá naloxon ezt blokkolta (Rubin és Bridges 1984). Az MPOA-ban található μ receptorok ingerlése β -endorfinnal rontotta az anyai viselkedést (Mann és Bridges 1992), tehát a morfin ilyen hatása is μ receptoron keresztül jöhet létre (Mann és mtsai 1991).

1.5.4. Pszichostimulánsok és szintetikus katinonok hatása az anyai adaptációra

A szintetikus katinonok anyai adaptációra való hatását tekintve jelenleg nincsenek elérhető állatkísérletes adatok, így hasonlóan más témakörökhöz, itt is a klasszikus, többe tanulmányozott drogokkal történt kísérletekből tudunk kiindulni.

Régóta ismert, hogy a korai posztnatális időszakban anyaállatoknak adott **amfetamin** súlyos zavarokat okoz az anyai viselkedésben, ez az utódvisszahordási, fészeképítési tesztekkel és az anyák kölykökkel és azok szoptatásával eltöltött idejének megfigyelésével igazolódott (Piccirillo és mtsai 1980). Hasonló hatása van a **metamfetaminnak** is, akár a vemhesség alatt, akár később, a laktáció folyamán került adagolásra (Slamberová és mtsai 2005b; Sevciková és mtsai 2017).

Kokain esetén tudjuk, hogy postpartum időszakban már alacsony dózis akut beadása is zavart okoz az anyai viselkedésben, mely az anya-utód interakciók ritkábbá válásában, tehát az utódok bizonyos fokú elhanyagolásában testesül meg (Johns és mtsai 1998; Williams és Johns 2014). Ezzel szemben vemhesség alatt adagolt kis dózisú (≤ 25 mg/ttkg) kokain nem okoz viselkedészavart (Nelson és mtsai 1998), nagyobb dózisban viszont már károsodik a fészeképítés és az utódvisszahordás is (Johns és mtsai 1994; Quiñones-Jenab és mtsai 1997). Nevelőszülős (cross-fostering) kísérletekből vannak bizonyítékok arra is, hogy a patkány anyák kevésbé törődnek a nekik adott prenatálisan kokainnak kitett kölykökkel, tehát az anyai viselkedésre való kokain hatás az anya-utód interakciók zavarának következménye is lehet (Johns és mtsai 2005; Lippard és mtsai 2015). Ezt bizonyítja, hogy a vemhesség alatti kokain expozíció hatására minőségében és gyakoriságában is megváltozik az utódok vokalizációja (McMurray és mtsai 2013; Lippard és mtsai 2015). Kokain mikroinfúziója az Ac vagy a MPOA területére gátolja az anyai viselkedést (Vernotica és mtsai 1999), ráadásul a kokain beadási sémától, dózistól és agyterülettől függően változtatja az oxitocin szintjét és ezzel is hat az anyai adaptációra, különösképpen az anyai agresszió kifejeződésére (Johns és mtsai 1997; összefoglaló: Williams és Johns 2014).

Mindebből joggal következtethetünk arra, hogy az MDPV és más szintetikus katinonok is negatív hatással lehetnek az anyai adaptációra és következésképpen az utód fejlődésére.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen dolgozatban a következő kérdések megválaszolását tűztük ki célul:

1) Milyen hatással van az MDPV prenatális adagolása az utód egerek fejlődésére és viselkedésére?

Milyen hatással van az MDPV a vemhesség és a szülés kimenetelére, valamint az utódok testi fejlődésére?

Milyen hatással van az MDPV a megszületett utódok lokomotoros aktivitására és motoros koordinációjára?

2) Hatással van-e az MDPV az anyai adaptációra és az utódgondozásra?

Ha igen, van-e eltérés két, az anyai adaptációban részt vevő neuropeptid (TIP39 és amylin) mRNS szintjében a releváns agyterületeken?

3) Van-e az MDPV-nek neurotoxikus hatása felnőtt, ill. fejlődő agyban?

Ha igen, ez milyen agyterületeket és milyen súlyossággal érint?

3. MÓDSZEREK

Etikai engedélyek

Az állatkísérleteket a Semmelweis Egyetem Anatómiai, Szövet és Fejlődéstani Intézetében végeztük, amely rendelkezik az élő állatokon történő tudományos kísérletek végzéséhez szükséges hatósági engedéllyel, melyet a Pest Megyei Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Igazgatóság állított ki (az engedély száma: XIV-I-001-2269-4/2012). A kísérletek tervezése és kivitelezése a hatályos törvények és irányelvek betartásával, a Semmelweis Egyetem Állatkísérleti Bizottságának Állatvédelmi Szabályzata szerint történtek.

A kísérletekhez használt 3,4-metiléndioxipirovaleron (MDPV) racém elegyét az LGC Standards (Teddington, Egyesült Királyság) gyártotta és a Medinspect Kft-n (Fót) keresztül vásároltuk. A kísérleteket az Egészségügyi Engedélyezési és Közigazgatási Hivatal Kábítószer Igazgatóságának (Budapest) engedélyével végeztük. Az engedély száma: #27924/2011/KÁB.

3.1. Az MDPV hatása a felnőtt és utód egerek viselkedésére valamint az anyai adaptációra

3.1.1. A kísérleti állatok kezelése

A kísérletekhez használt 40 db C57Bl/6J egeret az Országos Onkológiai Intézettől vásároltuk, a pároztatáskor életkoruk 16 és 22 hét közé esett. A pároztatás sikerességéről a hüvelydugó meglétének 12-24 órával későbbi ellenőrzésével győződünk meg. A primipara vemhes nőstényeket standard állatházi körülmények között (hőmérséklet: 23 °C, páratartalom: 65%, 12 órás fény-sötét ciklus) tartottuk, ivóvízhez és élelemhez ad libitum fértek hozzá. Az állatok testtömegét naponta mértük, hogy képet kapjunk a vemhesség előrehaladásáról.

A vemhes nőstények véletlenszerűen kerültek a kísérleti vagy a kontroll csoportba. Az előbbi csoport tagjai 10mg/ttkg MDPV-t kaptak 0,9%-os steril fiziológiás sóoldatban feloldva a tarkótájékon beadott szubkután injekció formájában, az oldat ösztérfogata állatonként 0,05 ml volt. A kontrollcsoport tagjai hasonló módon fiziológiás

sóoldatot kaptak. A beadás után a kezelt csoport tagjai jellegzetes viselkedési mintákat mutattak: a ketrecben körbe-körbe futottak és sztereotip mozgásokat végeztek, úgymint ugrálás, ágaskodás, rágcsálás, mosakodás vagy az alom túrása. Ezeknél súlyosabb akut következményeket vagy halálozást azonban egyetlen alkalommal sem figyeltünk meg. A fenti beadások naponta egyszer, a vemhesség 8. és 14. napja között történtek, ugyanis ebben az időszakban jelennek meg a fejlődő embrióban a mesolimbicus rendszer dopaminerg sejtjei (Bayer és mtsai 1993).

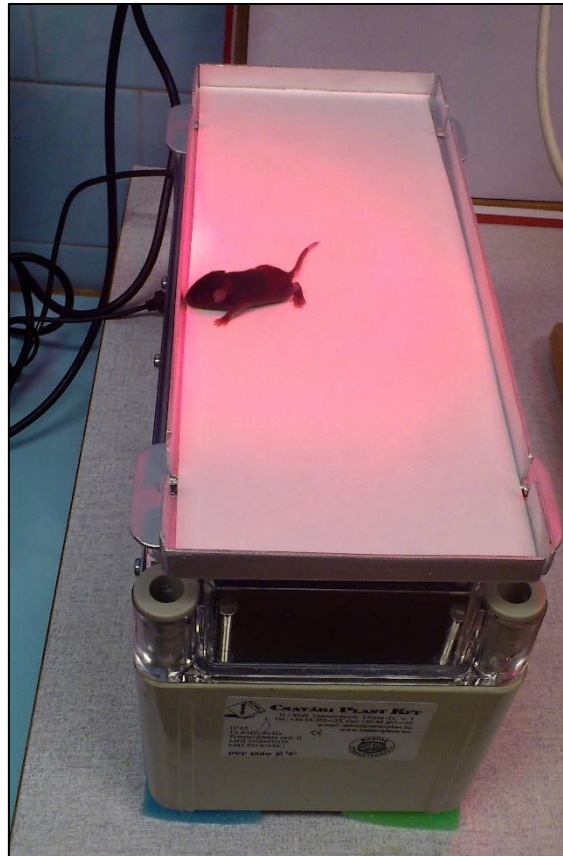
3.1.2. A lokomotor aktivitás mérése

A lokomotor aktivitás mérésére az open field, avagy aréna tesztet használtuk. A kísérleti elrendezés szerint az egeret egy 30*30*30 cm-es felül nyitott, de oldalain zárt, nem átlátszó aréna közepére helyeztük. A terület alapja 3 cm oldalú négyzetekre volt felosztva. A 10 perc hosszúságú mérés során manuálisan feljegyeztük, hogy mozgása során hány alkalommal keresztezi az állat a területet felosztó vonalakat. A tesztet elvégeztük a vemhességük alatt krónikusan kezelt anyákon a szülés utáni 7. napon (n=6 MDPV-vel kezelt, n=6 kontroll) valamint utódaikon azok 7 napos (n=14 MDPV-vel kezelt, n=15 kontroll) majd 21 napos (n=14 MDPV-vel kezelt, n=14 kontroll) korában. Megjegyzendő, hogy a 7 napos utódok nagyon esetlenül mozognak, még vakok és bár taktilis ingerek is segítik őket a tájékozódásban, az open field tesztet nem találtuk ideálisnak az ilyen fiatal állatok lokomotor aktivitásának mérésére.

Ezen probléma kiküszöbölése és a 7 napos egerek mozgásának alaposabb vizsgálata érdekében ún. stabilográfiát végeztünk. A vizsgálat alapjául szolgáló technikai hátteret Intézetünk Szenzomotoros Adaptációs és Vesztibuláris Laboratóriuma fejlesztette ki. A módszert eredetileg emberek vizsgálatára alkalmazták, de újabban egereket is sikeresen vizsgáltak vele (Büki és mtsai 2011; Szabó és mtsai 2015). A teszt során a fiatal állatokat egy 300*120 mm méretű fém platformra helyeztük, a kísérleti berendezés mechanikai szenzorjai közvetlenül e platform négy sarka alatt vannak. Ezen szenzorok az állat súlypontjának elmozdulását érzékelik, majd a berendezéshez tartozó program az adatok alapján egy görbét készít, amely megmutatja, hogy a vizsgálati idő alatt az állat súlypontja milyen útvonalon mozgott. Az elkészült regisztrátumon a platform 96 kis négyzetre (szektorra) van felosztva, így a teljes megtett útvonal mellett az állat által érintett szektorok száma képvisel adatot (**4. ábra**). Bár a program algoritmus

optimalizálva van a lokomotor aktivitás mérésére, világos, hogy az egy helyben álló állat testhelyzet-változtatásai is befolyásolják a mérési eredményt. E hatás csökkentése érdekében a platformot és rajta az állatot infralámpával melegítettük, hogy elkerüljük a reszketés okozta műterméket.

Mérésünk során 14 MDPV-vel kezelt és 15 kontroll állat mozgását regisztráltuk 5-5 percen át.

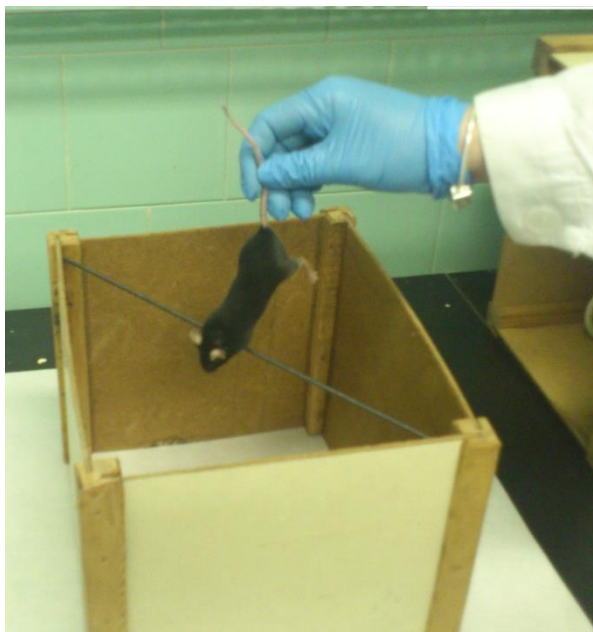


4. ábra. A stabilográfia kísérleti elrendezése.

3.1.3. A motoros koordináció mérése

A motoros koordináció megítélésére ún. grip strength avagy kapaszkodási tesztet végeztünk, melyet gyakran használnak a neuromuscularis fejlődés vizsgálatára (Crabbe és mtsai 2003). A teszt a következőképp zajlik: egy felül nyitott, de oldalain zárt aréna falai között egy stabil 3,5 mm átmérőjű és 25 cm hosszú, vízszintes fémrudat feszítünk ki, majd mérjük, hogy rúd közepére helyezett állat hány másodpercig képes mellső végtagjaival a rúdon kapaszkodni anélkül, hogy leesne. Minél tovább marad a rúdon az állat, annál jobbnak tartjuk motoros koordinációját. A fémrúd a doboz aljától 25 cm-re volt kifeszítve, így leeséskor az állat sérülése gyakorlatilag kizárt (**5. ábra**). Minden

állattal legalább három próbát végeztünk, az egyes próbák között minimum 30 perc telt el, így kiküszöbölhettük a procedurális tanulás hatásait a teljesítményre. Azon állatokkal, melyek első alkalommal azonnal leestek a rúdról még egy extra próbát is elvégeztünk, hogy az állatok új feladattól való meglepettsége ne befolyásolja az eredményt. Ezt a tesztet az anyaállatokkal (szülés utáni 7. napon, n=6 MDPV-vel kezelt, n=10 kontroll) valamint 21 napos utódaikkal (n=14 MDPV-vel kezelt, n=14 kontroll) is elvégeztük.



5. ábra. A kapaszkodási teszt kísérleti elrendezése. Az állatot lassan, felülről engedjük a rúdra, hogy legyen esélye abban megkapaszkodni.

3.1.4. Az anyai adaptáció mérése viselkedési tesztekkel

Az anyai adaptációt szülés előtt és után két különböző viselkedési teszttel értékeltük ki.

Az anyaállatokkal (n=9 MDPV-vel kezelt, n=10 kontroll) a vemhesség 7. napján (vagyis a kezelések előtt), a 11. napján (a kezelések alatt) és a 18. napján (a kezelés vége után) nest building, avagy fészeképítési tesztet végeztünk. Az állatok saját ketrecének tetejére 2,5 g gyapot fészekanyagot tettünk, melynek szálait lehúzva az állat búvóhelyet épít magának. Az elkészült fészkek minőségét egy 5 pontos skálán értékeltük (Hess és mtsai 2008). A skála a kész fészkek alakját, bejáratait és falait (azok számát és magasságát) értékeli. A legalapvetőbb tulajdonsága a fészkeknek, hogy központi üreggel kell rendelkezniük. Minél bonyolultabb és jobb minőségű a fészkek annál több pontot ér a tesztben.

A szülés utáni 7. napon az anyaállatokkal (n=6 MDPV-vel kezelt, n=7 kontroll) pup retrieval avagy utódvisszahordási tesztet végeztünk. Először kivettük az anyaállatot saját ketrecéből, majd az egy csoportban lévő utódokat a ketrec lehető legtávolabbi sarkába, nagyjából 30 cm-re tettük. Ezután visszahelyeztük az anyát eredeti pozíciójába. Megmértük, hogy mennyi idő telik el a visszahelyezéstől az első utód megragadásáig, illetve az utolsó utód visszaviteléig. Ha 600 másodperc alatt sem sikerült az anyaállatnak utódait az eredeti pozíciójukba visszavinni, a tesztet sikertelennek nyilvánítottuk és a 600 másodperces időplafont vettük figyelembe.

3.1.5. Az anyai adaptáció vizsgálata in situ hibridizációs technikával

Az in situ hibridizációs vizsgálatokhoz felhasznált probe-okat az irodalomban korábban leírt módon készítettük el (Dobolyi és mtsai 2006; Cservenák és mtsai 2010; Szabó és mtsai 2012). A teljes RNS készletet frissen kiboncolt diencephalon szövetből izoláltuk. Az RNS koncentrációja 2 µg/µl-re lett beállítva mielőtt Amplification Grade DNase I-el (Invitrogen, Carlsbad, Egyesült Államok) kezeltük. SuperscriptII (Invitrogen) alkalmazásával szintetizáltuk a cDNS-t, majd 10-szeres hígítás után a kapott cDNS 2,5 µl-ét PCR reakció templátjaként használtuk. A primereket (**2. táblázat**) 300 nM-os koncentrációban használtuk. A PCR reakció iTaq DNS polimeráz (Bio-Rad Laboratories, Hercules, Egyesült Államok) alkalmazásával történt, majd a kapott terméket gélből tisztítottuk, ezután TOPO TA klónozó vektorba (Life Technologies, Carlsbad, Egyesült Államok) juttattuk és az erre alkalmassá tett baktériumba transzformáltuk. A transzformált és így kiválasztott plazmidokat egy újabb PCR reakció templátjaiként használtuk. A reakciókban olyan TIP39, illetve amylin génre specifikus primer párokat használtunk, amelyek T7 RNS polimeráz számára felismerő hellyel rendelkeztek. Végül a kapott cDNS mintákat szekvenálással ellenőriztettük (Biomi Kft., Gödöllő).

2. táblázat. Az ismertetett kísérletben használt PCR primerek adatai

Peptid neve	Rövid név	UniGene kód	GenBank szám	Primer szekvencia	Primer pozíció
<u>Tuberoinfundibuláris peptid 39 (TIP39)</u> vagy Paratiroid hormon 2	Pth2	Mm. 207078	NM_0532 56	Előre: CTGCCTCAGG TGTTGCCCT	289-307
				Reverz: TGTAAGAGTC CAGCCAGCGG	452-471
<u>Amylin</u> vagy Islet amyloid polypeptide	Iapp	Mm. 415	NM_0104 91	Előre: CTCTCTGTGGC ACTGAACCA	138-157
				Reverz: TTCAGGAAAT CACCAGAGCA	422-441

Ahhoz, hogy a PIL régióban meghatározzuk a TIP39 mRNS szintjét 4 db MDPV-vel kezelt és 3 db kontroll állat agyát a post partum 10. napon eltávolítottuk, majd azonnal szárazjégre helyeztük és a felhasználásig -80°C-on tároltuk. Tizenkét µm vastagságú coronalis metszeteket készítettünk kriosztát (Leica CM3050 S, Leica, Wetzlar, Németország) segítségével, a metszési síkok a bregmától rostrocaudalisán +0.5 és -0.5 mm közötti szintben helyezkedtek el. A metszeteket azonnal pozitívan töltött tárgylemezre (SuperfrostUltraPlus, Thermo Fischer Scientific, Pittsburgh, Egyesült Államok) vettük fel, majd száradás után felhasználásig -80°C-on tároltuk. Az antiszensz [³⁵S] izotóppal jelölt uridin-trifoszfátot (UTP) T7 RNS polimerázt tartalmazó MAXIscript transzkripció kittel (Ambion, Austin, Egyesült Államok) állítottuk elő. A probe-ok olyan hígításban kerültek a metszetekre, hogy a percnkénti beütésszám 3×10^5 legyen. A TIP39 mRNS expresszió vizsgálata során adott állatban minden kilencedik, egymástól tehát rostrocaudalisán 108 µm távolságban lévő metszeteket hibridizáltuk. A hibridizációt RNáz A inkubáció és mosás követte, majd a megszáradt metszeteket NTB emulzióba (Eastman Kodak, Rochester, Egyesült Államok) mártottuk és 4°C-on három hétig exponáltuk autoradiográfia céljából. Ezután Kodak Dektollal való előhívás, majd

Kodak Fixerrel való fixálás következett. A metszeteket legvégül Giemsa festékkel háttérfestettük, majd DePeX-szel lefedtük.

Amylin esetében az eljárás a fentiekkel azonos módon zajlott, azzal a különbséggel, hogy a vizsgált coronalis metszetek bregmáról való rostrocaudalis távolsága -2.8 és -3.5 mm közé esett, hogy a metszetek az MPOA területét fedjék le. A metszetek ugyanazon állatok mintáiból készültek, melyeket a TIP39-es kísérletekhez használtunk (n=4 MDPV-vel kezelt, n=3 kontroll).

Mind a TIP39-t, mind az amylin tartalmazó neuronok kvantitatív vizsgálata a következő módon történt: Olympus BX 50 (Olympus, Tokió, Japán) mikroszkóp segítségével (20-szoros objektívvel, világos látótérben) megvizsgáltuk agyanként azt a 3-3, sorban egymás után következő metszetet, ahol a TIP39 illetve amylin mRNS-t tartalmazó neuronok száma a legmagasabb volt. TIP39 illetve amylin pozitív neuronok azt a radiográfiás szemcse csoportot tartottuk, ahol az egy sejtnyi területen legalább 9-10 db szemcse fordult elő, és/vagy amely a háttér szemcsézettségének legalább háromszorosát mutatta (az egy sejtnyi terület meghatározásában a háttérfestés segített). A radiográfiás szemcsék sűrűségét a következőképp jellemeztük: ImageJ szoftver (NIH, Bethesda, Egyesült Államok) segítségével meghatároztuk az adott metszeten található TIP39 illetve amylin mRNS tartalmú neuronok szemcsesűrűségét, majd az adott metszeten egy azonos nagyságú kereten belüli, de csak háttérszemcséket tartalmazó terület szemcsesűrűségét határoztuk meg. A kapott értékeket elosztottuk egymással, majd az így nyert relatív szemcsesűrűség értékeket hasonlítottuk össze a kezelési csoportokban.

3.2. Az MDPV apoptotikus hatása

3.2.1. Kísérleti állatok, kezelésük és viselkedési megfigyelések

A kísérletekhez használt C57B1/6J egereket az előzőekben ismertetettekhez hasonlóan standard állatházi körülmények között tartottuk. Az MDPV fejlődő agyra gyakorolt hatását 7 napos kiségeken vizsgáltuk. Irodalmi adatok alapján a 4.-től a 10. posztnatális napig tartó életszakasz megfeleltethető a humán harmadik trimeszternek, amikor az agysejtek számbeli növekedése a legnagyobb (Bayer és mtsai 1993). Egy almon belül a kiségek fele (almonként 8-10 kiségerrel számolhattunk; összesen 51 db állat) 10 mg/ttkg MDPV-t kapott fiziológias sóoldatban oldva intraperitoneálisan, a másik fele, melyet kontrollként használtunk, csak fiziológias sóoldatot kapott.

A 7 napos egereken open field tesztet végeztünk az 3.1.2 számú fejezetben leírtak szerint, a beadások után 30 illetve 60 perccel.

Az állatok testhőmérsékletét is vizsgáltuk egy kontakt nélküli infravörös hőmérővel (Microlife, Tajpej, Kínai Köztársaság). A méréseket a has bőrön végeztük közvetlenül a beadás előtt majd 10 percenként folyamatosan, utoljára a beadás után 2 órával.

Összehasonlításként 16 hetes felnőtt egereken is elvégeztük a kísérleteket (n=5 db MDPV-vel kezelt, n=4 db kontroll); a beadások a fentieknek megfelelően zajlottak.

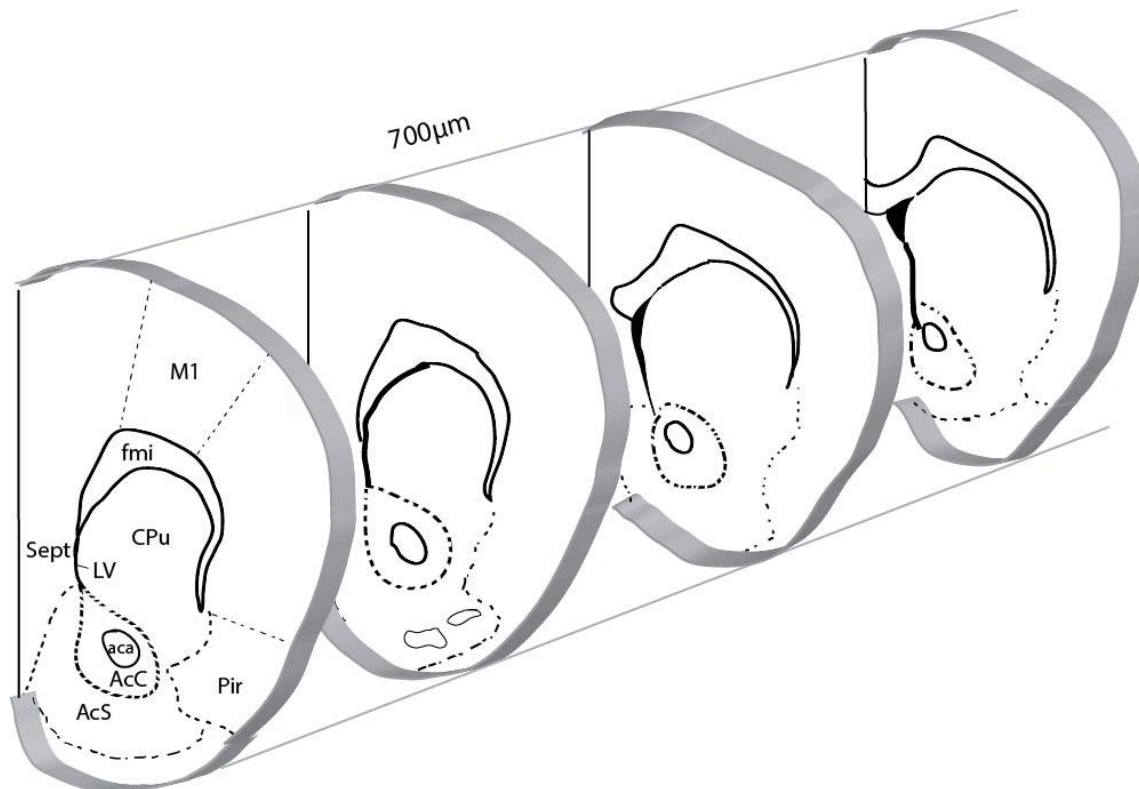
3.2.2. Az apoptózis vizsgálata immunhisztokémiával

A kezelések után 24 órával az állatokat terminális anesztézia (460 mg/ttkg ketamin, 80 mg/ttkg xylazin ip., az oldat térfogata 0,05 ml) után transzkardiálisan perfundáltuk fixáló oldattal, mely 4% paraformaldehidet tartalmazott 0,1 M-os Na-foszfát pufferoldatban (PB, pH=7,4). Az agyakat eltávolítottuk és 4% paraformaldehid, 0,1 M PB keverékével posztfixáltuk, majd 20%-os szacharóz oldatba tettük. 48 órával később fagyasztó mikrotómmal (Leica, Wetzlar, Németország) 70 µm vastagságú coronalis metszeteket készítettünk, majd minden másodikon kaszpáz 3 immunhisztokémiai festést, a közöttük kimaradókon pedig Nissl-féle festést végeztünk (**6. ábra**).

A kaszpáz 3 immunhisztokémiához a szabadon úszó metszeteket 0,1 M-os PB-vel 4*10 percen át mostuk, majd pepszines kezelést végeztünk antigénfeltárás céljából (0,1 mg/ml pepszin, 1 N HCl és desztillált víz oldata, 37°C, 10 perc), ezután sorozatos

mosások következtek, majd 5%-os normál kecske szérummal (NGS) blokkoltunk (0,1 M PB-ben, 30 percen át, szobahőmérsékleten). Következő lépésként a metszeteket poliklonális, nyúlban termeltetett anti-kaspáz 3 antisavóval (Sigma-Aldrich, St. Louis, Egyesült Államok; 1:1000 hígításban 1% NGS-mal és 0,3 % Triton X-100-zal) inkubáltuk 48 órán át 4°C-on. Ezután, 0,1 M-os PB-vel 3*20 perces mosást követően, a szekunder antiszérummal való reakció következett, melyben a metszeteket Alexa Fluor 488-cal kapcsolt anti-nyúl IgG-vel (Molecular Probes, Eugene, Egyesült Államok), 1:250 hígításban, 3 és fél órán át, szobahőmérsékleten inkubáltuk. Rövid száradás után a metszeteket 1:1 arányú glicerín-PBS oldatot használva fedőlemezzel lefedtük, majd digitális kamerával felszerelt Olympus BX 50 fluoreszcens mikroszkóp (Olympus) alatt vizsgáltuk. Kontroll kísérletként néhány metszetet kaspáz 3 antitestet tartalmazó szérum helyett NGS-mal kezeltünk, majd a fenti módon szekunder antitesttel reagáltattunk. Ez a kontroll kísérlet azt bizonyította, hogy a primer ellenanyag elhagyása után immunreakció (nem specifikus kötődés) nem mutatható ki. Egyes kiválasztott metszeten a sejtmagokat általánosan jelölő fluorokrómmal, 4,6-diamidino-2-fenilindoldihidrokloriddal (DAPI; Sigma-Aldrich) (5 mg/ml PB-ben, 30 percen át, szobahőmérsékleten) felülfestettük.

A kaspáz 3 immunhisztokémia eredményeink kiértékelése a következőképp zajlott: először is, ahhoz, hogy az apoptózison áteső sejtek számáról releváns adatot nyerjünk, az adott kiértékelendő területen a teljes sejtszámot is ismernünk kellett (DAPI-val jelölt sejtmagok). Az adott agyterületen található jelölt sejtek számát manuálisan, az ImageJ szoftver (NIH) segítségével számoltuk meg. A keresett agyterületek pontos határait a „The mouse brain in stereotaxic coordinates” című atlasz (Paxinos és Franklin 2008) segítségével határoztuk meg. A relatív sejtsűrűségek megadásához, az 1 mm² –re eső kaspáz 3 pozitív sejtek számát elosztottuk a területen lévő összes sejt számával. Az adatokat agyanként 5 metszetről gyűjtöttük, melyek, a közöttük kimaradó és Nissl festett metszetekkel együttesen egy 700 µm rostrocaudalis kiterjedésű szövetblokkot reprezentáltak, ahogy az a 6. ábrán látható.



6. ábra. A sejt számolás során figyelembe vett régiók vázlatos ábrázolása. Az ábra a nucleus accumbens core (AcC) és shell régióját (AcS), a caudatus-putamentum (CPu), a piriform kérget (Pir), a septumot (Sept) és az elsődleges motoros kérget (M1) jelöli külön. Az adatokat 10 egymás utáni coronalis metszetből nyertük, úgy, hogy 5 egymással nem szomszédos metszet került kaszpáz 3 immunfestésre, míg a közöttük kimaradókon Nissl-féle festést végeztünk. Az 5-5 metszet így rostrocaudalisán 700 µm távolságot fedett le (szemléltetési okokból az ábrán 10 metszet helyett csak 4 került bemutatásra). Hasonló módszerrel vizsgáltuk a retrosplenialis area és a hippocampus területét, melyek szintén belesznek a vizsgált tartományba (az ábrán nincs feltüntetve). Az agyterületek pontos határait atlasz segítségével határoztuk meg, majd a Nissl festett átnézeti metszetekkel való összehasonlítással ellenőriztük. További rövidítések: aca – commissura anterior, LV – ventriculus lateralis, fmi – forceps minor corporis callosi.

3.3. Statisztikai kiértékelés

Az open field és a grip strength tesztek eredményeit a kezelt és a kontroll csoport között többváltozós variancia-analízissel elemeztük, ahol a kezelés a független változó, a teszteken elért eredmények a függő változó, az alom sorszáma, melyhez az adott állat tartozott pedig kovariánsként szerepelt. Az analízishez az SPSS 11.0 szoftvert használtuk.

A stabilográfiás vizsgálat eredményeinek és az utódok testsúlyának összehasonlításához Student féle t-tesztet vettünk igénybe. Amennyiben a szórások különböztek, a Welch féle t-tesztet használtuk.

A pup retrieval valamint a nest building teszt elemzéséhez Mann-Whitney U-tesztet (M-W. U-teszt) vagy Wilcoxon tesztet használtunk. Előbbi vizsgálatkor összehasonlítottuk, hogy van-e különbség a kezelési csoportok között az első utód megragadásához illetve az utolsó utód fészekbe történő visszahordásához (az alomban lévő utódok számával osztva) szükséges időkből. Utóbbi esetén a mérés időpontjának és a kezelésnek a hatását vizsgáltuk a fészeképítés minőségére.

Az in situ hibridizációs vizsgálat eredményeit Student féle t-teszttel elemeztük, a Statistica v.12 szoftver (Dell Software, Round Rock, Egyesült Államok) segítségével.

A kaszpáz 3 pozitív sejtek kezelési csoportok közötti összehasonlítására két-utas variancia-analízist (ANOVA) használtunk Tukey-féle post hoc teszttel (SPSS 11.0).

Az eredmények bemutatása során a grafikonokon az átlagot \pm standard hibát ábrázoltuk (kivéve: 13., 17B. ábra).

4. EREDMÉNYEK

4.1. Az MDPV hatása a felnőtt és utód egerek viselkedésére, valamint az anyai adaptációra

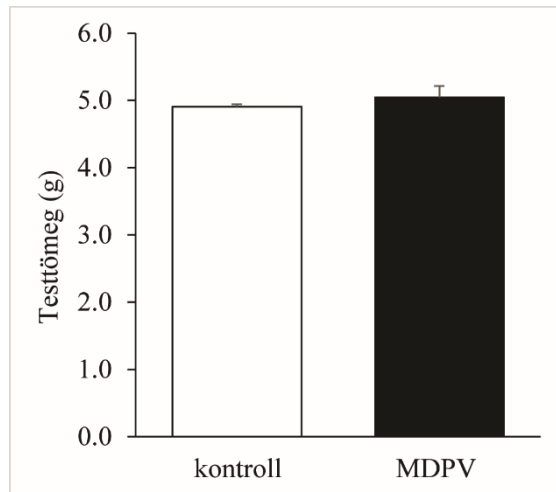
4.1.1. Az anyaegek vemhesség alatti kezelésének hatása a szülés kimenetelére

Az MDPV-vel kezelt anyák utódait illetően szignifikánsan rosszabb túlélést figyeltünk meg a kontrollcsoporthoz képest. Míg a kontrollállatok esetén a szülés utáni hetedik napon $6,30 \pm 0,40$, addig a kezelt állatok esetén $4,43 \pm 1,1$ élő kisegeret találtunk almonként ($p < 0,05$). Míg a kontroll állatok közül kivétel nélkül mindegyik élve és időre hozta világra kicsinyeit, addig a kezelt állatok esetén számos esemény csökkentette a túlélő utódok számát (**3. táblázat**).

3. táblázat. Az anyaállatok szülési adatai. A táblázatban szereplő adatok az adott kategóriába tartozó anyaállatok darabszámát jelentik.

	Élő, érett újszülöttek	Koraszülés	Vetelés	Halva születés	Kannibalizmus
MDPV-vel kezelt	18	2	18	2	4
kontroll	32	0	0	0	0

A végül túlélő utódok testtömegét a születés utáni 7. napon mértük meg; a kezelt és kontroll anyák kölykeinek testtömegében nem volt szignifikáns különbség (**7. ábra**).

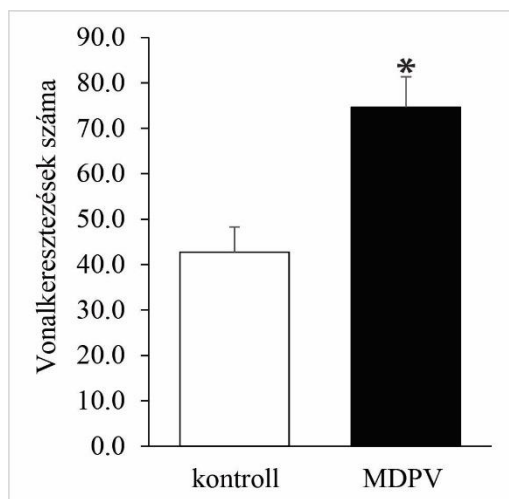


7. ábra. Vemhesség alatti MDPV adagolás hatása az utódok testtömegére a születés utáni 7. napon mérve. Nem találtunk szignifikáns eltérést (Welch-próba, $t=0,78$, d.f.:27, $p=0.43$).

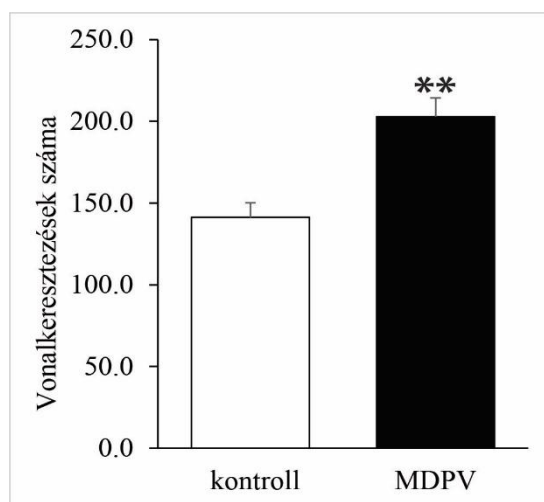
4.1.2. A lokomotor aktivitás

Mind a 7, mind a 21 napos utódok open field tesztjéről elmondható, hogy az alom sorszáma, mint független változó nem befolyásolta a lokomotor aktivitást (ANOVA: $F=1.89$, d.f.:28, $p=0,181$ és $F=0,1$, d.f.:26, $p=0,754$). Hét napos kisegerek esetén azonban az MDPV kezelés szignifikánsan növelte a lokomotor aktivitást (**8. ábra**). 21 napos utódoknál az MDPV kezelésnek nem volt szignifikáns hatása az open field teszt kimenetelére (ANOVA: $F=2,95$, d.f.:26, $p=0,099$). Azonban ha az almot, mint kovariánst eltávolítottuk a modelltől, a vemhesség alatti kezelés szignifikánsan növelte az open field tesztrel mért lokomotor aktivitást (**9. ábra**).

A szülés után 7 nappal vizsgálva a krónikusan kezelt anyaállatok nem mutattak nagyobb aktivitást, mint kontroll társaik (Kétmintás t-próba: $t=2,94$, d.f.:10, $p=0,17$).



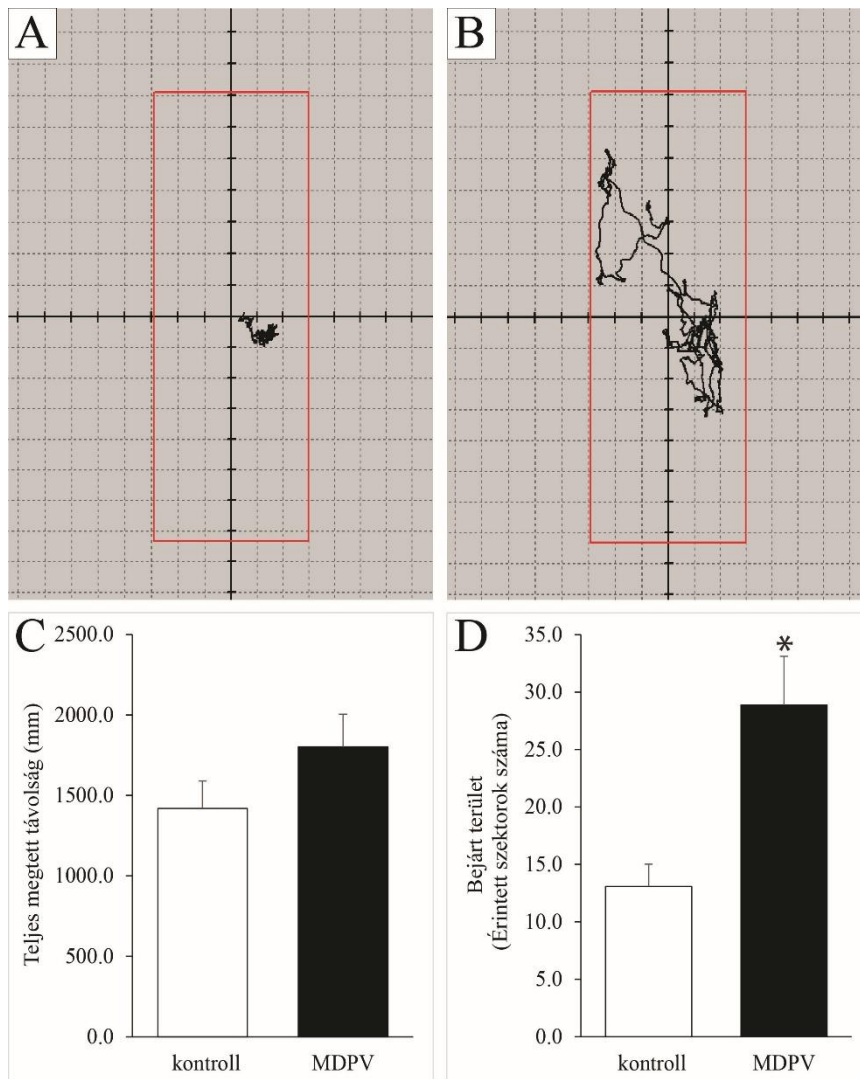
8. ábra. A vemhesség alatti MDPV adagolás hatása a 7 napos utódok lokomotor aktivitására. A függőleges tengelyen azt ábrázoltuk, hogy az open field teszt arénát felosztó elválasztó vonalakat hányszor keresztezte az állat. Az MDPV-vel kezelt anyaállatok utódai szignifikánsan nagyobb aktivitást mutattak (ANOVA: $F=9,5$, d.f.:28, $p=0,005$). * $p < 0,05$



9. ábra. A vemhesség alatti MDPV adagolás hatása a 21 napos utódok lokomotor aktivitására. A függőleges tengelyen azt ábrázoltuk, hogy az open field tesztben használt arénát felosztó elválasztó vonalakat hányszor keresztezte az állat. Az MDPV-vel kezelt anyaállatok utódai szignifikánsan nagyobb aktivitást mutattak (ANOVA: $F=18,2$, d.f.:26, $p < 0,001$). ** $p < 0,001$

A stabilográfia eredményeit az 10. ábrán láthatjuk. A 10A. és 10B. ábrákon regisztrátumok találhatóak a kontroll és az MDPV-vel kezelt anyák 7 napos utódainak mozgásáról. Az állatok által megtett teljes távolságot illetően nem találtunk szignifikáns eltérést a kezelési csoportok között (**10C. ábra**), azonban a felvétel során bejárt terület méretében különbség mutatkozott: a kezelt csoport tagjai szignifikánsan több szektort

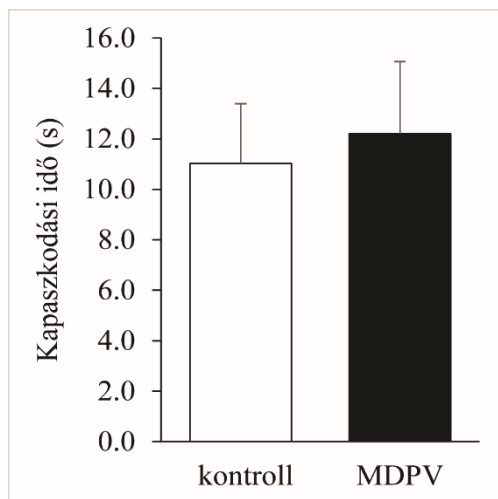
érintettek (10D. ábra). Ez megerősíti a 7 napos egerekre vonatkozó open field teszt eredményét.



10. ábra. (A, B) Reprezentatív stabilográfias görbék a 7 napos egerek mozgásáról. A felvett regisztrátumokon látható különbség volt a kontroll (A) és az MDPV-vel kezelt (B) állatok utódainak görbéi között. (C, D) Vemhesség alatti MDPV kezelés hatása 7 napos utódok lokomotor aktivitására. Az összesen megírt távolságot tekintve nem találtunk szignifikáns eltérést (két mintás t-próba: $t=2,056$, d.f.:26, $p=0,156$) (C), azonban az MDPV-vel kezelt állatok utódai szignifikánsan több szektort érintettek mozgásuk során, avagy nagyobb területet jártak be, mint a kontroll utódok (két mintás t-próba: $t=2,101$, d.f.:18, $p=0,003$) (D). * $p < 0,05$

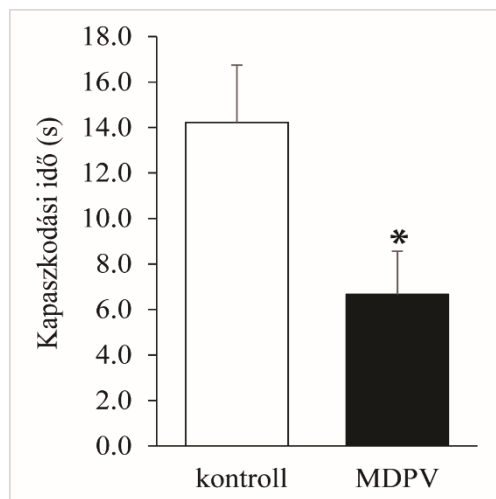
4.1.3. A motoros koordináció

A motoros koordináció mérésére használt grip strength tesztben a születési utáni 21. napon mérve nem találtunk jelentős különbséget a kontroll és az MDPV-vel krónikusan kezelt állatok utódai között (**11. ábra**).



11. ábra. A vemhesség alatti MDPV adagolás hatása a 21 napos utódok motoros koordinációjára, kapaszkodási teszttel vizsgálva. Nem találtunk szignifikáns különbséget, a kezelt és kontroll csoport állatai lényegében azonos ideig voltak képesek a rúdon maradni. ANOVA: $F=0,3$, d.f.: 26, $p=0,596$

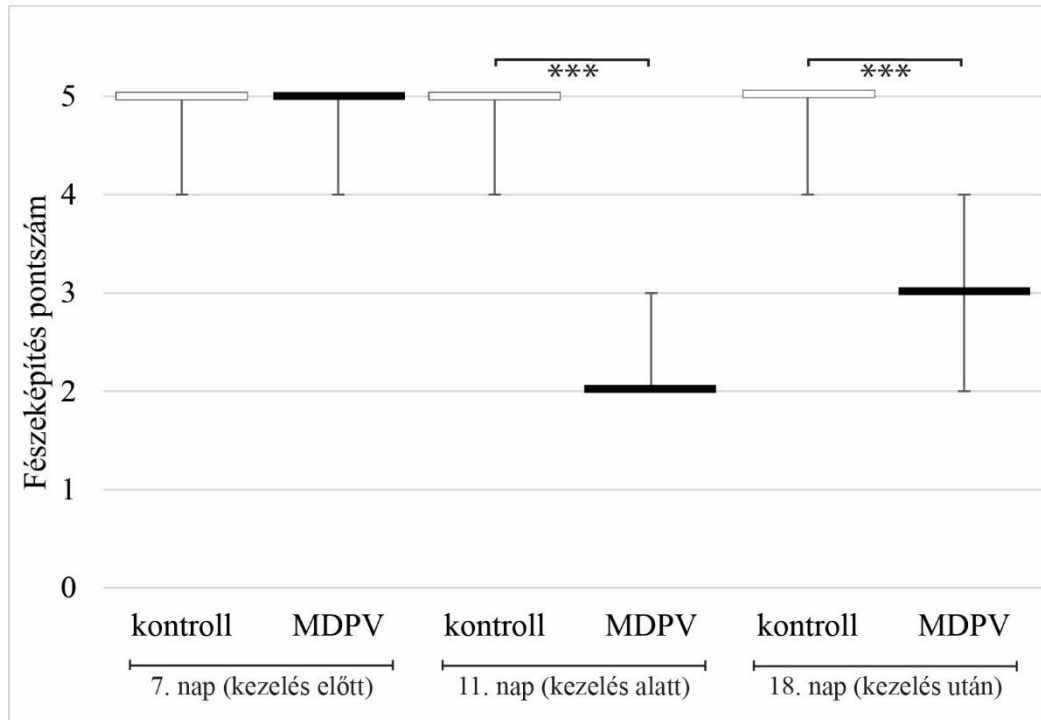
Hét nappal a szülés után mérve az MDPV-vel kezelt anyaállatok szignifikánsan rosszabbul teljesítettek a teszten, avagy rövidebb ideig voltak képesek függeszkedni az aréna felett kifeszített rúdon, mint kontroll társaik, így hamarabb estek le (**12. ábra**). A grip strength tesztet nem végeztük el 7 napos egereken, azok elégtelen izomereje és fejletlen poszturális koordinációja miatt.



12. ábra. A vemhesség alatti MDPV adagolás hatása az anyaállatok motoros koordinációjára kapaszkodási teszttel vizsgálva. A vemhesség 8. és 14. napja között MDPV-vel kezelt anyaállatok 7 nappal a szülés után szignifikánsan kevesebb ideig képesek a rúdon maradni, motoros koordinációjuk rosszabb, mint a kontrollcsoporté (kétmintás t-próba, $t=4,01$, d.f.: 10, $p=0,002$).
* $p < 0,05$

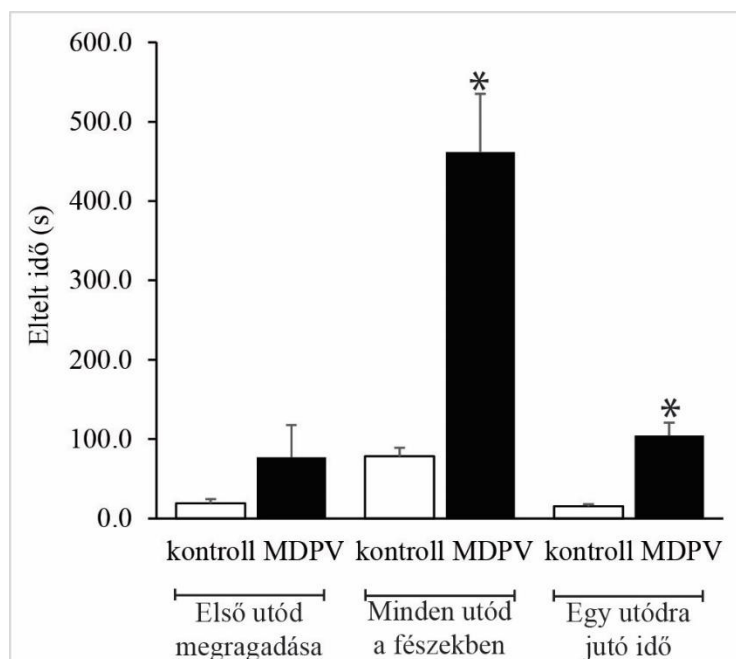
4.1.4. Az anyai adaptáció mérése viselkedési tesztekkel

A fészkepítési (nest building) tesztet vemhes állatokon végeztük a krónikus kezelés előtt, közben és után, pontosabban a vemhesség 7., 11. és 18. napján. A kontrollcsoport állatai mérés időpontjától függetlenül ugyanúgy teljesítettek (Friedman-teszt, $n=10$, $\xi^2=0$, $p=1$), míg az MDPV-vel kezelt állatok teljesítménye az idő függvényében szignifikánsan változott, romlott (Friedman-teszt: $n=9$, $\xi^2=15,77$, $p<0,001$). Amikor adott mérési időpontban összehasonlítottuk a kontroll és a kezelt állatok fészkeinek minőségét, akkor láhattuk, hogy a kezelés előtt mindkét csoport ugyanolyan jól teljesített, míg a kezelés alatti és a kezelés vége utáni 4. napon a kezelt egerek szignifikánsan rosszabb eredményt értek el (**13. ábra**).



13. ábra. Krónikus MDPV kezelés hatása az anyai viselkedésre, fészeképítési teszt. A fészkek minőségét egy 1-től 5-ig pontozó skálán értékeltük (Hess és mtsai 2008). A vemhesség 11. és 18. napján egyaránt szignifikánsan rosszabbul teljesítenek az MDPV kezelt anyaállatok, vagyis rosszabb minőségű fészket építenek (Mann-Whitney U-teszt: $U=0$, $p<0,001$ ill. $U=2$, $p<0,001$). A diagramm vízszintes hasábjai a medián értéket, a hibasávok a minimum és maximum értéket jelölik. *** $p<0,001$.

A szülés után elvégzett utód visszahordási (pup retrieval) teszt eredményeiben (**14. ábra**) láttuk, hogy bár nem volt jelentős különbség az első utód megragadásáig eltelt időben, az az időtartam, mire az összes utódot a visszahordták az MDPV-vel kezelt anyák a fészekbe, a kontrollcsoport idejéhez képest szignifikánsan nagyobb volt (ha a mért időket az anya utódainak számával standardizáljuk). Ezenfelül, az az átlagos idő, mialatt az anyák egy utódot a fészekbe vitték, szintén hosszabb volt az MDPV-vel kezelt állatok esetében

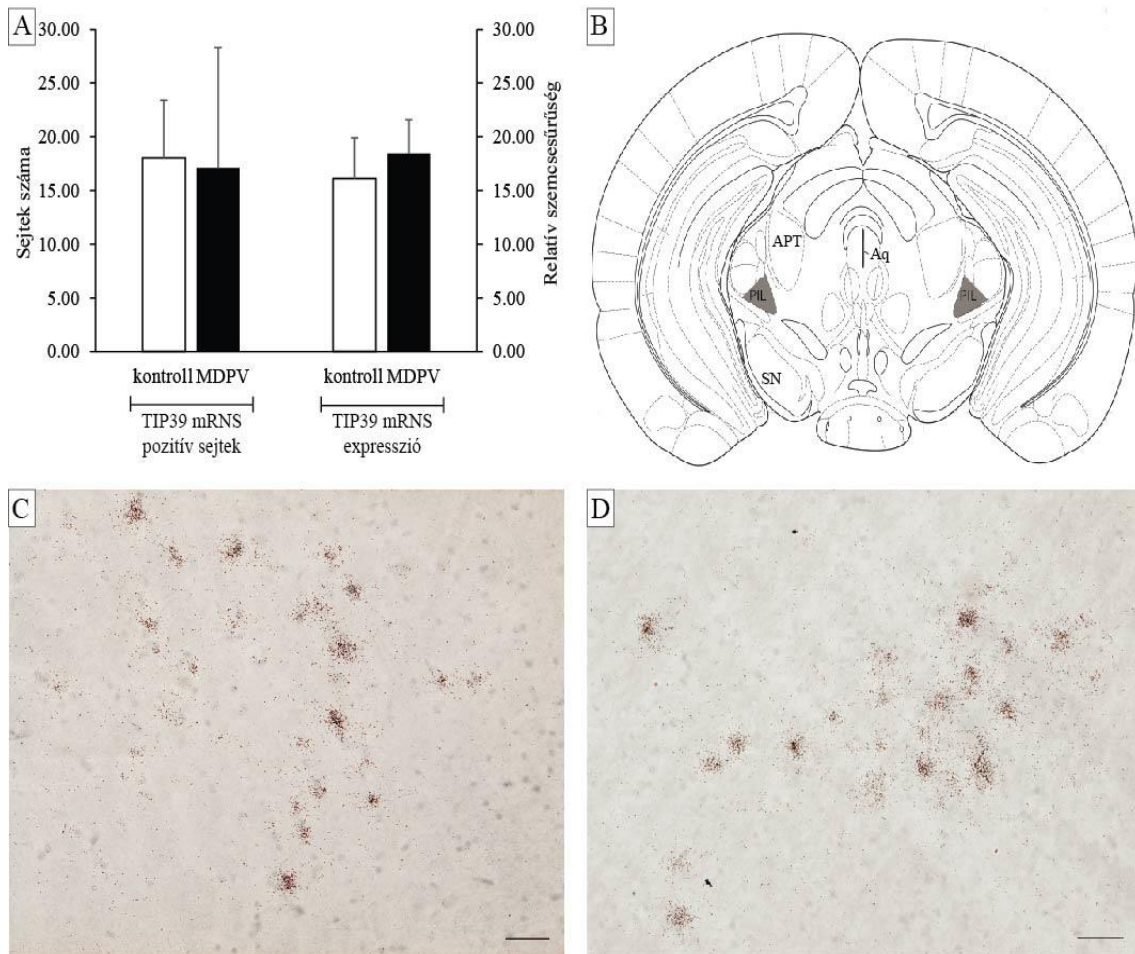


14. ábra. Krónikus MDPV kezelés hatása az anyai viselkedésre, utódvisszahordási teszt. Az első visszahordandó utód megragadását illetően nem volt jelentős különbség a kontroll ill. kezelt állatok között (első oszloppár, M-W. U-teszt: $Z=0,968$, $p=0,332$). Azonban az összes utód fészekbe hordásához szignifikánsan több időre volt szüksége az MDPV-vel kezelt állatoknak (második oszloppár, M-W. U-teszt: $Z=3,033$, $p=0,0024$), és az egy utódra jutó visszahordási idő is szignifikánsan hosszabb volt a kezelt állatok esetében (harmadik oszloppár, (M-W. U-teszt: $Z=3,033$, $p=0,0024$). * $p < 0,05$

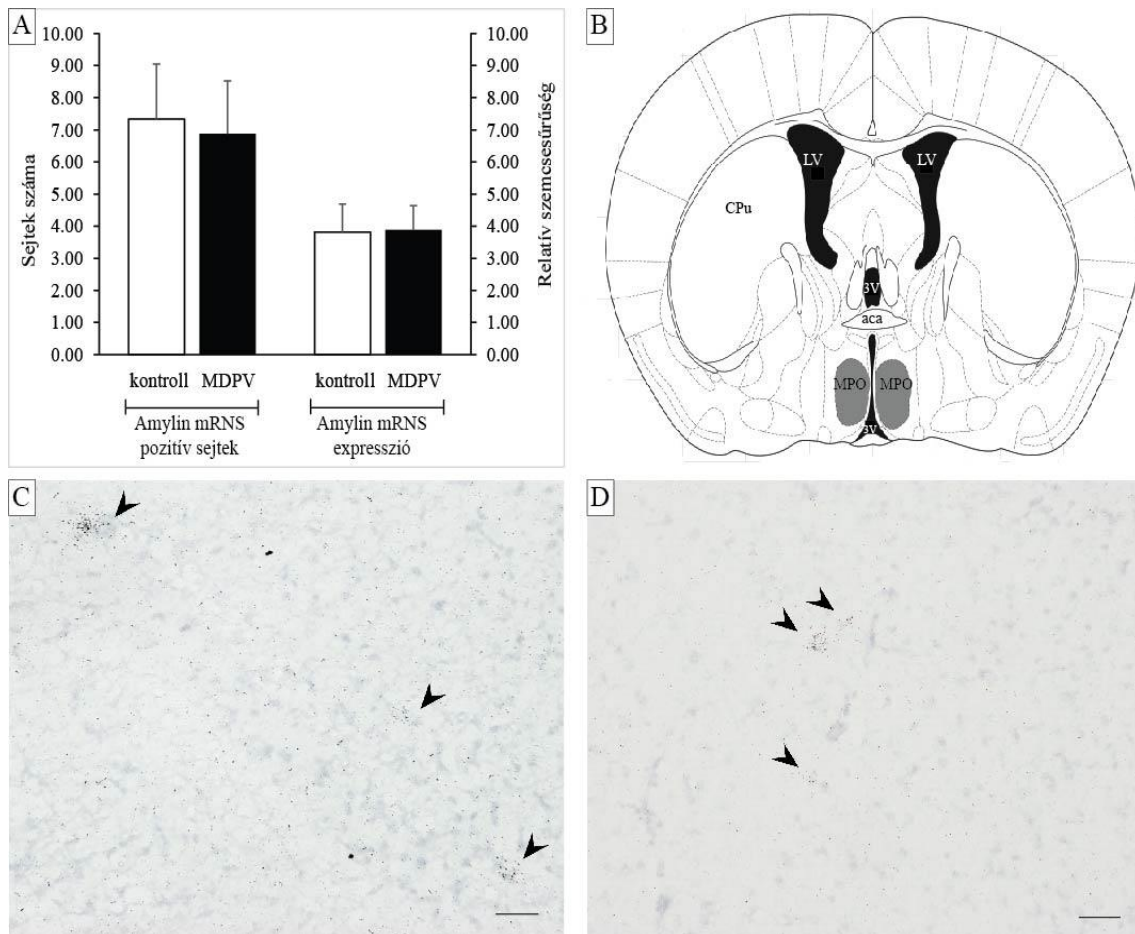
4.1.5. Az anyai adaptáció vizsgálata in situ hibridizációs technikával

In situ hibridizáció után a thalamus hátsó intralamináris komplexének (PIL) TIP39 mRNS pozitív sejtjeit viszonylag egyszerűen azonosítottuk, ugyanis közvetlen környezetükben nem találhatóak TIP39 pozitív sejtcsoportok. Nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelési csoportok között sem a PIL-ben található jelölődött sejtek átlagos számában, sem az ott található jelölődött sejtek TIP39 mRNS denzitásában (**15A. ábra**).

Az hypothalamus medialis preopticus areájában található amylin mRNS expresszáló sejtek száma viszonylag alacsony volt és ezek is a mag területén szétszórva vagy 2-5 sejtet tartalmazó csoportokat alkotva voltak fellelhetők. Nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelési csoportok között sem az amylin mRNS-t expresszáló sejtek átlagos számában, sem pedig a az egyes sejtek átlagos amylin mRNS denzitásában (**16A. ábra**).



15. ábra. TIP39 mRNS expresszió a thalamus hátsó intralamináris komplexében (PIL). (A) Nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelési csoportok között sem a jelölődött sejtek számát (bal oszloppár, kétmintás t-próba: $t=0,292$, d.f.: 5, $p=0,781$), sem azok autoradiográfias szemesesűrűségét illetően (jobb oszloppár, kétmintás t-próba: $t=-0,371$, d.f.: 5, $p=0,725$). **(B)** A PIL lokalizációja (szürke terület) egy, a bregmától 0,10 mm-re rostralisán készült coronalis metszeten (Paxinos és Franklin, 2008). **(C)** Reprezentatív autoradiográfias felvétel a PIL régióról egy kontroll állatról készült metszeten, világos látótérben. **(D)** Reprezentatív autoradiográfias felvétel a PIL régióról egy MDPV-vel krónikusan kezelt állat agyáról készült metszeten, világos látótérben. Lépték: 30 μm **(C,D)**. További rövidítések: Aq – aqueductus cerebri, APT – nucleus pretectalis anterior, SN – substantia nigra.



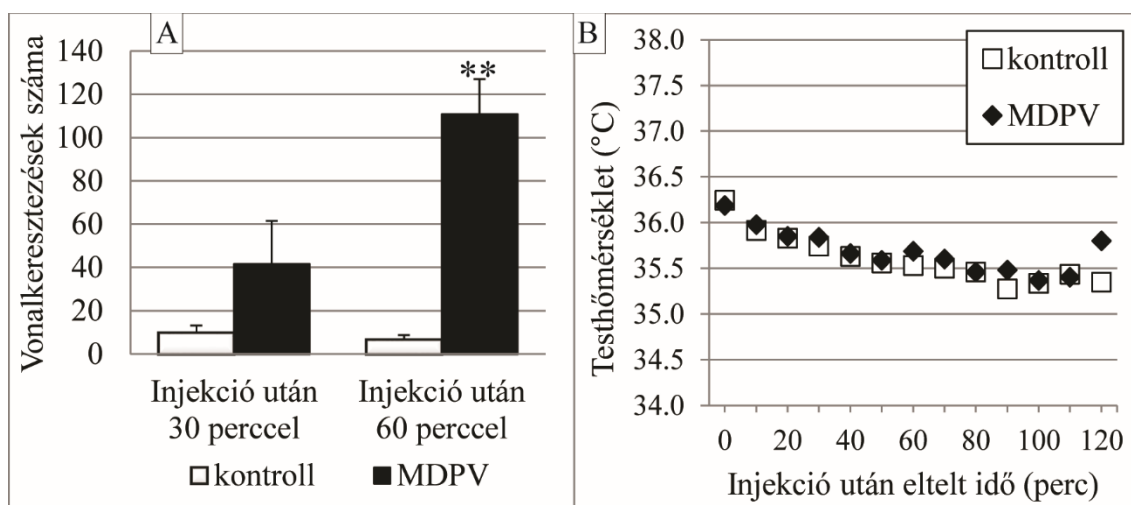
16. ábra. Amylin expresszió a hypothalamus nucleus preopticus medialisában (MPO). (A) Nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelési csoportok között sem a jelölődött sejtek számát (bal oszloppár, kétmintás t-próba: $t=0,254$, d.f.: 5, $p=0,809$), sem azok autoradiográfiás szemesűrűségét illetően (jobb oszloppár, kétmintás t-próba: $t=-0,108$, d.f.: 5, $p=0,917$). (B) Az MPO lokalizációja (szürke terület) egy, a bregmától 3,08 mm-re caudalisan készült coronalis metszeten (Paxinos és Franklin, 2008). (C) Reprezentatív autoradiográfiás felvétel az MPO régióról egy kontroll állatról készült metszeten, világos látótérben. A nyílhegyek az egyes sejteket jelölik. (D) Reprezentatív autoradiográfiás felvétel az MPO régióról egy MDPV-vel krónikusan kezelt állat agyáról készült metszeten, világos látótérben. A nyílhegyek az egyes sejteket jelölik. Lépték: 30 μm (C,D). További rövidítések: LV – ventriculus lateralis, 3V – ventriculus tertius, aca – commissura anterior, CPu – caudatus-putamen.

4.2. Az MDPV apoptotikus hatása

4.2.1. Lokomotor aktivitás és testhőmérséklet

A kontrollcsoportba tartozó 7 db kisegér lokomotor aktivitása a kísérlet folyamán végig nagyon alacsony volt, hozzájuk képest az MDPV-vel kezelt kisegerek (n=8) mozgásaktivitása 30 perccel az injekció után növekvő tendenciát, majd 60 perccel utána szignifikánsan magasabb aktivitást mutatott (**17A. ábra**). A növekedett lokomotor aktivitás mellett az állatok számos alkalommal veszítették el egyensúlyukat (koruknál fogva poszturális kontrolljuk amúgy is fejletlen), többek között elestek, buk fenceztek vagy a falnak ütköztek.

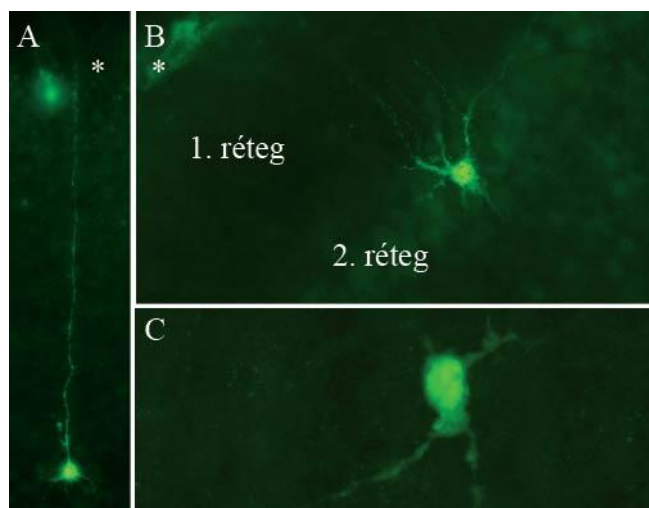
Az állatok testhőmérséklete az MDPV kezelés ellenére gyakorlatilag állandó maradt és nem különbözött a kontrollcsoporttól (**17B. ábra**).



17. ábra. 10 mg/ttkg MDPV hatása a lokomotor aktivitásra (A) és a testhőmérsékletre (B) 7 napos kisegerekben. (A) A függőleges tengelyen azt ábrázoltuk, hogy az open field teszt arénát behalózó vonalakat mozgása során hányszor keresztezte az állat. Harminc perccel az injekció után még nem (kétmintás t-próba: $t=1,472$, d.f.:13, $p=0,164$), de hatvan perccel utána az MDPV-vel kezelt állatok szignifikánsan magasabb lokomotor aktivitást mutattak (kétmintás t-próba: $t=5,913$ d.f.:13, $**p < 0,01$). (B) Az MDPV-vel kezelt csoport tagjainak átlagos testhőmérséklete a kezelés után adott időpontokban mérve nem különbözött a kontrollcsoport tagjaitól (az injekció utáni 60. percnél például: kétmintás t-próba; $t=0,665$, d.f.:12, $p=0,518$).

4.2.2. Az apoptózis vizsgálata immunhisztokémiával

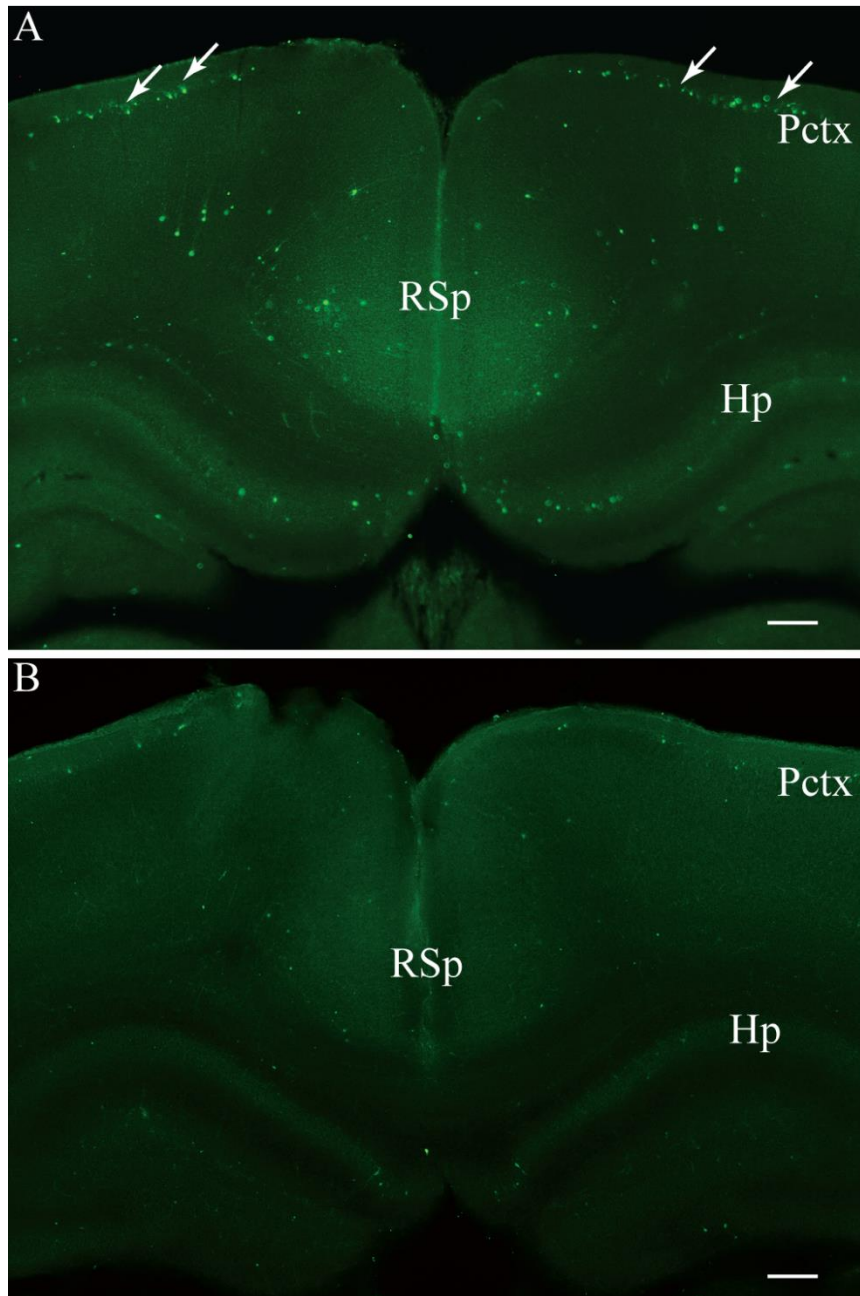
Kaspáz 3 immunoreaktív (Casp3+) sejteket a telencephalon számos régiójában sikerült megfigyelnünk. A Casp3+ sejtek morfológiája több esetben az adott terület egy ismert sejtípusára volt jellemző, amely bizonyos szintű anatómiai alapú identifikációt is lehetővé tett. Például a retrosplenialis kéregben a piramissejtekre jellemző hosszú (akár a subpialis rétegig követhető) apikális dendrittel rendelkező sejtalakokat találtunk (**18A ábra**). A kéregben csillagsejtekre jellemző neuronformákat ismerhettünk fel (**18B ábra**), míg a nucleus accumbensben (Ac) és a striatumban medium spiny neuronoknak megfelelő sejtalakokat láttunk (**18C ábra**).



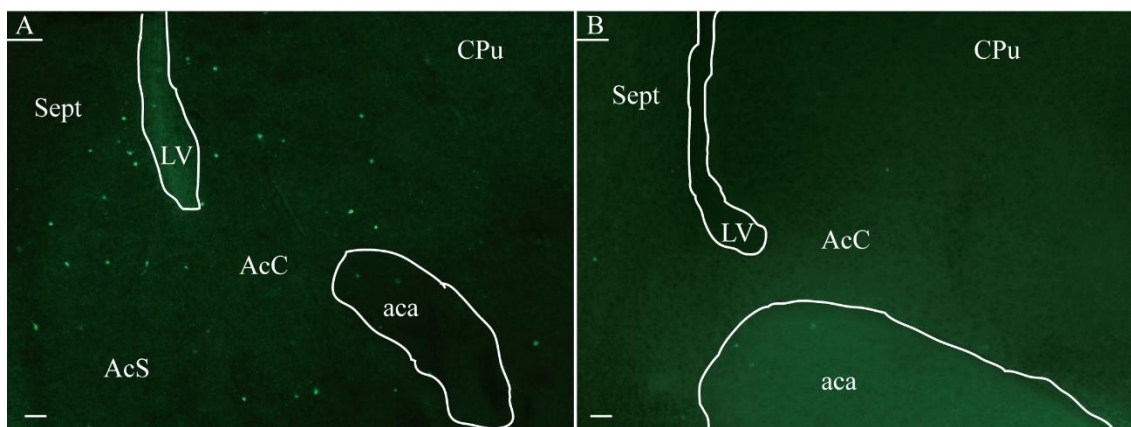
18. ábra. Kaspáz 3 pozitív sejtek 7 napos kiscsiger egyes palliális és subpalliális agyi régióiban, 24 órával egyszeri 10 mg/ttkg MDPV ip. injekcióját követően. Csillaggal a pialis felszint jelöltük. (A) Az agykéreg 5. rétegében található piramissejt a retrosplenialis kéreg területén. (B) Nem piramis-sejt morfológiájú multipoláris neuron az agykéreg 2. rétegében. (C) Medium spiny neuronnak megfelelő sejtalak a nucleus accumbensben.

Az MDPV injekciót követően az apoptotikus sejtek megjelenése a telencephalon azon régióiban volt a legszembetűnőbb, amelyek ismertén a jutalmazási rendszerrel és az emóciók agyi központjaival állnak kapcsolatban vagy azok részét képezik. Az MDPV kezelt csoportban a Casp3+ sejtek jelentős számbeli növekedését láttuk a hippocampus CA1 régiójában (de a gyrus dentatusban nem) és más limbicus pallialis területeken, így a gyrus cinguliban és a piriform kéregben (**19. ábra**). A kérgi területek közül azonban sok nem mutatta a fokozott kaspáz 3 jelölődést (például a primer motoros kéreg sem). Azon

kérgi régiókban, ahol a jelölődött sejtek száma viszonylag magas volt, az apoptózist szenvedő sejtek, érdekes módon, elsősorban a 2. rétegben sorakoznak (**19. ábra**). A legnagyobb növekedést a kaszpáz 3 jelölt sejtek számában a nucleus accumbens mutatta, olyannyira, hogy MDPV-vel kezelt 7 napos egerek agyában a kaszpáz 3 pozitív sejtek szinte kirajzolják az említett mag core és shell régióját (**20. ábra**). Ezzel szemben, más subpallialis magokban, úgymint a caudatus-putamenben (CPu) vagy a septumban nem mutatkozott látható változás a Casp3+ sejtek számában. Megjegyzendő, hogy az Ac, CPu és a retrosplenialis kéregben az apoptotikus sejtek száma a kontroll állatokban is viszonylag magas volt más régiókhöz képest (**21. ábra**).

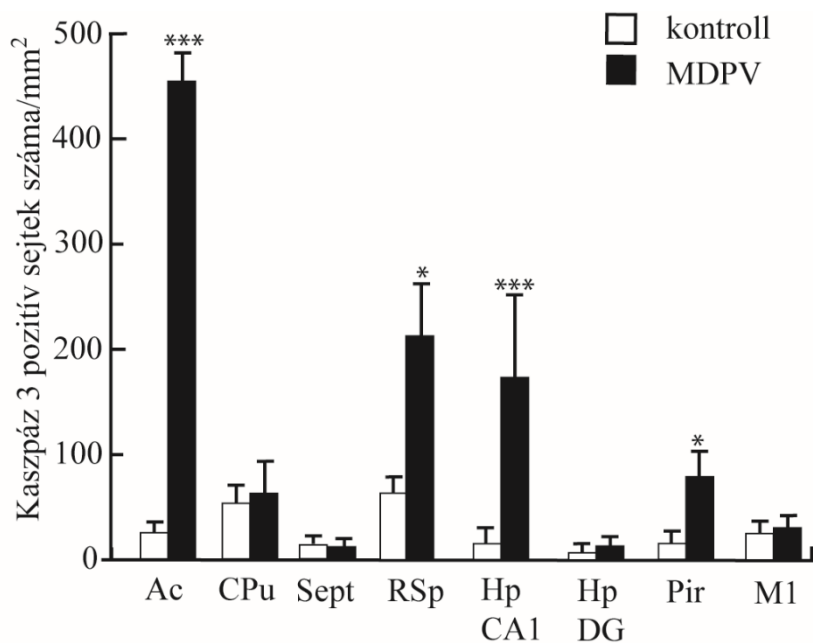


19. ábra. Kaspáz 3 immunhisztokémiával jelölt sejtek a hippocampusban (Hp), a retrosplenialis kéregben (RSp) és a parietalis kéreg hátsó részén (Pctx) 24 órával egyszeri 10 mg/ttkg MDPV beadása után, 7 napos egérben. Jól látható a kezelt állatokban (A) az apoptózist szenvedő sejtek nagyobb száma a kontrolhoz (B) képest. A kezelt állatokban a hippocampusban jelölődött sejtek jellemzően a CA1 régióban voltak megtalálhatók, a parietalis kéregben jelölődöttek pedig a stratum granulosum externumban koncentráálódtak (nyíllal jelölve). Lépték: 100 μ m



20. ábra. Kaszpáz 3 immunoreaktív sejtek a nucleus accumbens core (AcC) és shell (AcS) régiójában 24 órával egyszeri 10 mg/ttkg MDPV kezelés után (A). Kontroll állatokban markánsan kevesebb apoptotikus sejtet találunk (B). További rövidítések: aca – commissura anterior; CPU – caudatus-putamen; Sept – septum; LV – ventriculus lateralis. Lépték: 50 μ m

A kvantitatív változásokat a 21. ábra foglalja össze. A leírt immunhisztokémiai vizsgálatot felnőtt egereken is elvégeztük, és az említett agyterületek mindegyikében elhanyagolható mennyiségű kaszpáz 3 jelölt sejtet találtunk mind az MDPV-vel kezelt (n=5), mind a kontroll (n=4) állatokban. Felnőtt állatokban a kaszpáz 3 pozitív sejtek száma négyzetmilliméterenként az egyes agyterületeken a következő: nucleus accumbens (MDPV-vel kezelt: $1,5 \pm 1,2$; kontroll: $0,87 \pm 0,6$), CPU (MDPV-vel kezelt: $1,6 \pm 1,16$; kontroll: $1,9 \pm 0,92$), septum (MDPV-vel kezelt: $0,4 \pm 0,21$; kontroll: $0,54 \pm 0,12$), retrosplenialis kéreg (MDPV-vel kezelt: $1,14 \pm 1,1$; kontroll: $1,01 \pm 0,6$), hippocampus CA1 (MDPV-vel kezelt: $2,14 \pm 1,9$; kontroll: $2,87 \pm 1,3$), gyrus dentatus (MDPV-vel kezelt: $1,22 \pm 0,84$; kontroll: $0,97 \pm 0,33$), piriform kéreg (MDPV-vel kezelt: $0,78 \pm 0,21$; kontroll: $0,64 \pm 0,31$), elsődleges motoros kéreg (MDPV-vel kezelt: $0,62 \pm 0,41$; kontroll: $0,55 \pm 0,34$).



21. ábra. Kaspáz 3 immunoreaktív sejtek sűrűsége a telencephalon egyes régióiban 10 mg/ttkg MDPV vagy vehiculum egyszeri adása után 24 órával, 7 napos egérben. A kezelt állatok bizonyos agyterületein szignifikánsan több apoptotizáló sejtet találtunk, úgymint a nucleus accumbensben (Ac; $F=4,125$, d.f.:12, $p=0,00087$), a hippocampus CA1 (Hp CA1; $F=3,072$, d.f.:12, $p=0,00087$) régiójában, a retrosplenialis kéregben (RSp; $F=0,932$, d.f.:12, $p=0,047$) valamint a piriform kéregben (Pir; $F=1,015$, d.f.: 12, $p=0,039$). A kezelt csoportban $n=6$, a kontroll csoportban $n=7$ állatot vizsgáltunk. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. További rövidítések: CPu – caudatus-putamen, Sept – septum, Hp DG – gyrus dentatus hippocampi, M1 – primer motoros kéreg.

Ahhoz, hogy pontosabb képet kapjunk az apoptózis mértékéről, az adott agyterületen meghatároztuk a sejtek általános sűrűségét is (a sejtmagok DAPI festésével). Ezen adatok és az adott agyterületen érzékelt kaspáz 3 pozitivitás segítségével képet kaphatunk arról, hogy a teljes sejtpopuláció mekkora számbeli veszteséget szenvedett el **(4. táblázat)**. Általánosságban a megfigyelt területeken a négyzetmilliméterenkénti teljes sejtszám nem különbözött az MDPV-vel kezelt és a kontrol csoport állatai között. Egyedülként a nucleus accumbensben látható nagymértékű csökkenés az összes sejt számában, itt a sejtek csaknem 9%-a apoptózist szenved MDPV kezelés után. Máshol ez az arány jóval kisebb, annak ellenére, hogy az apoptózissal elvesztett sejtek aránya több agyterületen még így is erősen szignifikáns (például ilyen a hippocampus CA1 régiója) **(4. táblázat)**.

4. táblázat. Egyszeri 10 mg/ttkg MDPV beadás után 24 órával megfigyelt apoptózis a teljes sejtszám arányában 7 napos egerekben. A táblázatban kezelési csoportok és agyi régiók szerint láthatjuk a teljes sejtsűrűséget, illetve hogy a kaszpáz 3-al jelölődött sejtek hány százalékát tették ki az összes neuronnak. Az adatok átlag \pm standard hibaként vannak feltüntetve. A sejtszámolás 5 db egymással nem szomszédos koronális metszeten, meghatározott agyterületen folyt. A metszetvastagságból adódó hibák (átfedő elemek vagy tangentialis metszés miatti figyelmen kívül hagyás, ill. kettős számolás) kiküszöbölése céljából a kapott adatokat Abercrombie-féle korrekció segítségével konvertáltuk. A táblázatban feltüntetett agyterületeken a kezelt kisállatokban a teljes sejtpopuláció jóval nagyobb része szenvedett el apoptózist, mint a kontroll állatokban (ANOVA; Ac: $F=4,789$, d.f.:14, $p=0,00073$; RSp: $F=1,056$, d.f.:14, $p=0,045$; Hp CA1 $F=3,987$, d.f.:14, $p=0,00083$; Pir: $F=0,977$, d.f.:14, $p=0,044$). Rövidítések: Ac – nucleus accumbens; RSp – retrosplenialis kéreg; Hp – hippocampus; Pir – piriform kéreg. * $p<0,05$, *** $p<0,001$.

Régió	DAPI pozitív sejtek száma/mm ²		A kaszpáz 3 pozitív sejtek százalékos aránya a DAPI pozitív sejtek között mm ² -enként	
	kontroll	MDPV	kontroll	MDPV
Ac	7984,3 \pm 59,4	8665,5 \pm 67,3	0,43 \pm 0,04	8,89 \pm 1,03 ***
RSp	6354,8 \pm 97,8	6592,5 \pm 102,3	0,71 \pm 0,12	3,33 \pm 0,7 *
Hp CA1	7217,6 \pm 61,4	7163,9 \pm 78,6	0,16 \pm 0,02	2,74 \pm 0,61 ***
Pir	5987,3 \pm 79,9	6079,5 \pm 98,8	0,20 \pm 0,09	1,31 \pm 0,05 *

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Vemhesség alatti MDPV expozíció hatása annak kimenetelére

A vemhesség 8. és 14. napja között naponta adagolt MDPV-vel kezelt egéranyák esetében csökkent az almonkénti élveszületések száma, ugyanekkor megjelentek a kontroll állatoknál nem tapasztalt, szüléssel kapcsolatos komplikációk, nem kívánt események is, mint például a vetélés vagy a koraszülés. MDPV adagolása tehát jelentős számú utód elvesztését vonta maga után (Gerecsei és mtsai 2018). Bár az MDPV állatkísérletekben történő prenatális adagolásáról saját munkánkon kívül nem találunk irodalmi adatot, figyelembe véve a rokon vegyületek ilyen körülmények közötti használatának következményeit emberben és állatban (1.2.2. és 1.5.4. fejezet), nem lehet különösebben meglepő e megfigyelés. A szüléskor, vagy nem sokkal utána elhullott utódokat az anyaállat rendszerint felfalja, ezért azok vizsgálata nem minden esetben lehetséges. Sem az MDPV-vel kezelt, sem a kontroll anyaállatok utódai között (akár túléltek végül akár nem) nem találtunk súlyos, látható fejlődési rendellenességet. Hét nappal a szülés után az utódok testsúlya független a kezelési csoporttól és mivel látható rendellenesség nem volt megfigyelhető, így vélhetően a prenatális MDPV adagolás nem okoz durva és tartós fejlődésbeli lemaradást, illetve ennek vizsgálata csak finomabb módszerekkel lehetséges.

Az MDPV expozícióra megjelenő, szüléssel kapcsolatos, komplikációk aligha függetlenek a választott dózistól. Az általunk alkalmazott 10 mg/ttkg MDPV (sc. vagy ip. adagolva) irodalmi összehasonlításban közepesnek, esetleg kicsit magasnak mondható. Egerek viselkedési kísérleteiben az említett adagolási módokon a legtöbb szerző egy széles, 0,3-30 mg/ttkg közötti skálán választja az általa alkalmazott dózist (Marusich és mtsai 2012; Fantegrossi és mtsai 2013; Gannon és mtsai 2017; Gianotti és mtsai 2017; López-Arnau és mtsai 2017). Csoportunk választása olyan dóziszra esett, mely előkísérleteinkben felnőtt egereken látható pszichomotoros stimulációt okozott, elhullás, görcsök, vagy más súlyos mellékhatás nélkül. Ezzel modellezni kívántuk az emberi droghasználatot: a fogyasztók is olyan dózisban igyekeznek magukhoz venni a szert, mely a lehető legtöbb óhajtott és a lehető legkevesebb mellékhatást okozza (noha ezt számos körülmény befolyásolja, például a metabolizmus egyéni különbségei vagy a tolerancia). Mivel azonban a prenatális MDPV expozíciót követően előforduló perinatális

komplikációkat, tudomásom szerint, még nem vizsgálták, így az alkalmazott 10 mg/ttkg dózis, tisztán teratológiai nézőpontból, nem tekinthető szilárdan megalapozottnak.

5.2. Vemhesség alatti MDPV expozíció hatása az utódok viselkedésére

A vemhesség alatti MDPV adagolás nem okozott látható eltérést az utódok nyugalomban mutatott viselkedésében. A lokomotoros aktivitást vizsgáló tesztek azonban kimutatták, hogy az in utero drognak kitett állatok már 7 napos korukban (ekkor még vakok) magasabb spontán aktivitással rendelkeznek kontroll társaiknál. Az aréna (open field) teszt és a stabilográfiás vizsgálat eredménye is abba az irányba mutat, hogy az állatok nagyobb területet járnak be adott idő alatt, ezzel ellentétben az összes megtett út (stabilográfiával mérve) nem növekedett statisztikailag szignifikáns mértékben (Gerecsei és mtsai 2018). A különbség oka valószínűleg az, hogy az összes megtett útba alig számíthatódnak bele a dopaminerg aktivációból fakadó sztereotíp viselkedésformák, mint amilyen például a fej ide-oda biccentése vagy a kényszeres mosakodás. A stabilográfia szoftvere úgy lett kalibrálva, hogy a helyváltoztatással nem járó, sugárirányú ide-oda elmozdulások, „oszcillációk”, az útvektor összegébe csak minimális mértékben számítsanak bele. Azonban a súlypont vándorlása (deflexió), az érintett szektorok súrolása, ill. ismételt be- és kilépések révén valódi helyváltoztatás nélkül is tükrözi a mozgásaktivitás növekedését, nagyobb szektor-lefedettség formájában. Az MDPV lokomotoros aktivitást fokozó hatása felnőtt állatok esetén dóziszfüggő, méghozzá oly módon, hogy a dózis-hatás grafikonon egy fordított U alakot ír le. Eszerint nagyobb dózisos adásakor (>3mg/ttkg) a lokomotoros aktiváció (konkrétan az aréna teszt különböző változataiban megtett út) csökken, aminek oka a sztereotíp mozgásformák gyakoribbá válása (Marusich és mtsai 2012; Aarde és mtsai 2013; Baumann és mtsai 2017). Összességében tehát, a prenatálisan MDPV-vel kezelt utódok megnőtt motilitása inkább egyfajta nagy frekvenciájú, szabálytalan, több irányba végzett mozgásnak tekinthető, semmint folyamatos, célirányos sétálásnak, felderítésnek. Ez a mozgásforma fokozott pszichomotoros izgatottságnak, agitációnak felel meg és teljesen hasonló az MDPV felnőtt állatoknak való akut beadása után tapasztaltakhoz (Aarde és mtsai 2013; Baumann és mtsai 2013a).

A kapaszkodási teszt (grip strength) eredményeiből láttuk, hogy prenatális MDPV expozíció nem rontja a motoros koordinációt fiatal állatokban: úgy tűnik tehát,

hogy ilyen irányú hosszú távú hatással nem kell számolni. Felnőtt állatok esetében azonban krónikus MDPV kezelést követően is hamarabb esnek le az állatok a grip strength teszt rúdjáról, a leesés rövidebb latenciája rosszabb motoros koordinációra utal. Ugyanakkor a hasonló forgó rúd (rotarod) tesztben 15 perccel az MDPV injekció után nem rosszabb a kezelt állatok teljesítménye, mint a kontrolloké (Marusich és mtsai 2012). A két teszt azonos alapokon nyugszik: megfelelő egyensúly, bizonyos izomerő és a rúdon való fennmaradásra irányuló motiváció (más szóval, a leeséstől való félelem) szükséges a végrehajtáshoz. Az általunk elvégzett vizsgálatban az izomerő valószínűleg fontosabb, mint a rotarod tesztben; ugyanakkor megfigyeltük, hogy az állatok farkukkal és testükkel intenzíven egyensúlyoznak, végtagjaikkal sokszor fogást váltanak, illetve gyakran a rúd egyik vagy másik vége felé indulnak meg. E mozgások végrehajtása pedig nem kizárólag, sőt az eltelt idővel fordított arányosságban nem is elsősorban, izomerő-függő.

Az MDPV adagolásra általunk választott időablak megfeleltethető az emberi terhesség első trimesztere második felének, mely a dopaminerg (tirozin-hidroxiláz expersszáló) idegsejtek differenciációjának időszaka, de megelőzi a D1 és D2 dopamin receptorok megjelenését (Wahlstrom és mtsai 2010). Emiatt, amennyiben dopaminerg mechanizmusok is részt vesznek a megfigyelt viselkedésváltozások létrehozásában, úgy ezek, vélhetően, inkább a pre-, semmint a posztzinaptikus oldal eltéréseiben keresendők. A prenatális MDPV expozíció dopaminerg (vagy a monoaminerg) rendszerre való hatásait illetően a korábbi kokainnal végzett kísérletekre érdemes hagyatkoznunk, ugyanis a szélesebben vizsgált klasszikus pszichostimuláns drogok közül ennek a hatásmechanizmusa hasonlít legjobban az MDPV-jére (1.3.3. fejezet). Számos tanulmány vizsgálta a kérdést, azonban az eredmények nem egységesek, ugyanis nagyon eltérő adagolási sémák és vizsgálati paradigmák teszik nehézé az adatok értékelését (Glatt és mtsai 2000). Prenatális kokain expozíció az utód nemétől, életkorától és a vizsgált agyterülettől függően változtatja (striátumban csökkenti, nucleus accumbensben és substantia nigrában növeli) az extracelluláris dopamin szintet (Henderson és McMillen 1993; Keller és mtsai 1994; Martin és mtsai 2016). A D1 receptor aktivitásának csökkenése valószínűleg a receptor és annak G_S partnerfehérjéje között lévő kapcsolat felbomlása miatt következik be (Martin és mtsai 2016), de számos közlemény szerint nincs változás a D1 receptor aktivitását illetően sem a striátumban sem a Ac-ben (Leslie és mtsai 1994; Choi és mtsai 1998). Ezzel szemben, a D2 és annak mRNS-e, valamint a

DAT is magasabb kifejeződést mutat kokainnal kezelt anyák utódainál. E megfigyelések együttesen a kokainelvonás esetén látható neurokémiai profilra hasonlítanak (Leslie és mtsai 1994; Choi és mtsai 1998). Megfigyelték továbbá, hogy a VTA-ban, de máshol nem, a TH immunreaktivitás jelentősen csökken, mely utalhat embrionális korban elszenvedett neurodegenerációra az említett agyterületen (Morrow és mtsai 2001). Tranziens módon lecsökken a striátum és a Ac 5-HT és 5-hidroxiindolacetát (5-HIAA) szintje is, mely a szerotonerg rendszer károsodására utal (Henderson és McMillen 1993; Yan és mtsai 2002). A monoaminerg rendszerekre gyakorolt hatás mellett, a prenatális kokain expozíció hatással van a GABA és glutamát tartalmú neuronok fejlődés alatti migrációjára és rétegződésére is (Lee és mtsai 2011; McCharty és Bhide 2012), ezt pedig valószínűleg a megváltozott D1 és D2 aktiváció okozza (Crandall és mtsai 2007). Egy további lehetséges mechanizmus a dopaminerg, vagy velük kapcsolatban álló, idegsejtpopulációk degenerációja, ahogy arra a diszkusszió későbbi részében külön kitérünk. Az MDPV potenciális neuro-, illetve citotoxikus hatása jelenleg kevésbé ismert és ellentmondásos témakör (Angoa-Perez és mtsai 2017). Ahogy azt az 1.3.6. fejezetben részleteztük, *in vitro* modellben az MDPV a vér-agy gát károsodását okozza (Rosas-Hernandez és mtsai 2016), emellett bizonyos körülmények között mitokondriális diszfunkciót és apoptózist is kiválthat (Wojcieszak és mtsai 2016; Valente és mtsai 2017a,b). Ezzel szemben *in vivo* neurodegenerációra kevés bizonyíték áll rendelkezésre (Sewalia és mtsai 2018). Fontos kitétel azonban, hogy az MDPV neurotoxikus hatásait *in vivo* mindeztáig kizárólag felnőtt állatokon vizsgálták, a kivételt éppen a jelent dolgozatban részletezett kísérletek jelentik. Könnyen elképzelhető, hogy a felnőtt és a fiatal állatok agya eltérően reagál az MDPV (mint dopaminerg ágens) adagolására, azok eltérő neurokémiai, illetve neuroanatómiai jellemzői következményeként (5.4. fejezet). Összességében, tehát, az MDPV prenatális expozíciója számos támadásponton befolyásolhatja a monoaminerg, különösen a dopaminerg rendszer állapotát, de ennek pontos mikéntje és jelentősége az egyes viselkedésformák befolyásolásában további kutatásokat igényelne.

Fel kell vetnünk továbbá annak a lehetőségét, hogy az utódok megnövekedett lokomotoros aktivitása nem az MDPV expozíció közvetlen következménye. Mint azt az utódvisszahordási és fészeképítési teszt eredményeiből láttuk, az anyai viselkedés krónikus MDPV adagolás hatására tartósan tűnő zavart szenved, a csökkent anyai

viselkedésnek, törődésnek pedig következménye lehet az utódok megváltozott viselkedése. Azokban az állatmodellekben, ahol időleges anya-kölyök szeparációt vagy korai elválasztást alkalmaztak, az utódok megnövekedett lokomotoros aktivitását észlelték (Colorado és mtsai 2006; Kwak és mtsai 2009), a fokozott lokomotor aktivitás, valamint a depresszió és szorongásszerű viselkedési változások pedig felnőttkorban is láthatóak voltak (Daniels és mtsai 2004; Son és mtsai 2007; George és mtsai 2010). Ezek az eredmények azt mutatják, hogy általánosságban a csökkent fokú anyai törődés az utódok növekvő aktivitásával jár, ennek oka pedig az lehet, hogy az ilyen anyák utódainak többet kell tenniük az anyatej és az anyai védelem „megszerzéséért”. A nagyobb mozgásaktivitás, csakúgy, mint a (például prenatális kokain expozíciókor) megváltozott vokalizáció (McMurray és mtsai 2013; Lippard és mtsai 2015), funkciója tehát az emlők keresése, illetve az anyák figyelmének felhívása lehet. Jegyezzük meg, hogy az anyai adaptáció nagyon súlyos zavara az utódok alultáplálását is előidézhetheti, ekkor a lokomotoros aktivitás nem növekszik, hanem csökken (Majdak és mtsai 2016).

5.3. Vemhesség alatti krónikus MDPV adagolás hatása az anyai viselkedésre

Az utódvisszahordási (pup retrieval) teszt eredménye alapján az anyaállatok vemhesség alatti krónikus MDPV kezelése leginkább az összes utód fészekbe hordásának latenciáját növelte, de az egyes utódok visszahordásának ideje szintén szignifikáns növekedést mutatott. Bár az első utód megragadásához szükséges idők közötti különbség nem érte el a szignifikáns szintet, megállapíthatjuk, hogy a krónikus MDPV kezelés a laktációs időszakokra is kiterjedő zavart okozott az anyai viselkedésben. Az anyaállatok open field teszt-eredményeiben, tehát lokomotoros aktivitásában, nem volt különbség, így kijelenthetjük, hogy a lassabb utódvisszahordás nem a megváltozott aktivitás következménye, hanem az anyai motiváció specifikus zavara miatt áll elő (Gerecsei és mtsai 2018).

A vemhesség alatt épített fészkek minősége az MDPV kezelés hatására szignifikánsan romlott, ez pedig arra utal, hogy az anyai viselkedés zavara a kölykök jelenlététől (és azok viselkedésétől) függetlenül is fennáll.

A lehetséges hatásmechanizmusokat tekintve, az MDPV, mint dopaminerg (és noradrenerg) szer befolyásolhatja az anyai viselkedést, ahogy ezt már számos e rendszereken ható kábítószerrel kimutatták (1.5.4. fejezet). Más vegyületek is, mint pl. a

típusos és atípusos antipszichotikumok, akutan vagy krónikusan adagolva egyaránt zavart okoznak az anyai viselkedésben, ebben pedig a D2 és a szerotonin receptorai közül a HT_{2A/2C} gátlása tűnik kritikussá (Li és mtsai 2005; Li 2015). A D1 vagy D2 dopamin receptorok gátlása esetén tehát zavart szenved az anyai viselkedés kifejeződése (Giordano és mtsai 1990; Byrnes és mtsai 2002), a ventralis striatumban létrehozott dopamin depléción pedig az utódvisszahordást igen, de a szoptatást nem károsította, a betolakodókkal szembeni agressziót nem csökkentette (Hansen és mtsai 1991; Keer és Stern 1999; Henschen és mtsai 2013). Kisebb mértékben ugyan, de a dorsalis striatumban történő dopaminerg transzmisszió is szükséges az utódvisszahordáshoz (Keer és Stern 1999; Henschen és mtsai 2013). Ismert továbbá, hogy kölykök jelenlétének hatására a nucleus accumbens (mely a ventralis striatum része) emelkedett extracelluláris DA szint tapasztalható (Champagne és mtsai 2004; Hansen és mtsai 1993). Ezen eredmények eredője az a megállapítás, hogy a mezolimbikus dopaminerg rendszer sérülése az anyai viselkedés motorikusan aktív elemeit (mint az utódvisszahordás és fészeképítés) károsítja, ugyanakkor a passzív elemeket (mint a szoptatás) nem gátolja. Az ilyen motorikusan aktív viselkedési elemek az állat bizonyos szintű motiváltságát feltételezik, a jutalom (reward) szerepét pedig maga a kölyök játssza (Lee és mtsai 2000; Numan és mtsai 2005b).

A dopamin tehát aktív szerepet játszik az anyai viselkedés bizonyos aspektusainak létrejöttében, és az alacsony dopaminszint elégtelen anyai törődést eredményez. Emiatt felmerül a kérdés, hogy az olyan dopaminerg drogok, mint az MDPV vagy a kokain, hogyan okozhatják mégis az anyai viselkedés romlását? Kokainfüggő embereknél megfigyelték, hogy további kokain adás után a nucleus accumbens dopamin szintje a korábbiakhoz képest kevésbé emelkedik (Volkow és mtsai 1997), vagyis megjelenik a tolerancia. Idővel a kokain tartós használata több lehetséges preszinaptikus támadásponton (pl.: DAT gátlás csökkenése) hypodopaminerg állapotot hoz létre (Ferris és mtsai 2011; Willuhn és mtsai 2014; Siciliano és mtsai 2014). Állatkísérletekben a kokain önadagolása után a VTA ingerlése csökkent Ac-beli dopamin felszabadulást képes csak kiváltani (Siciliano és mtsai 2015). Tartós kokain adagolásakor fennáll a normálisan jutalomként szereplő ingerekre való érzéketlenség (Volkow és mtsai 2010; Rose és mtsai 2017) és ilyen jutalom a kölykökkel való interakció is az anyaállat számára. Lehetséges

tehát, hogy kokain tartós használata után a kölyök reward funkciója nem érvényesülhet a mesolimbicus dopaminerg rendszer csökkent érzékenysége miatt.

Egy másik potenciális mechanizmus a prenatális kokain expozíció oxitocin (OT) rendszeren keresztüli hatása (Williams és Johns 2014). A gesztáció alatt adagolt kokain a szülés utáni második napon vizsgálva elnyomja az anyai viselkedést, emellett a VTA, hippocampus és az MPOA régiókban csökkenti az oxitocin szintet (Johns és mtsai 1997). Később azonban időben és agyterületenként változó eltérés tapasztalható az OT és az OT receptor szintekben, emellett az OT receptor ligandkötési képességei is függenek a posztpartum naptól és a vizsgált agyterülettől (Jarrett és mtsai 2006; összefoglaló: Williams és Johns 2014). A kokain tehát nagyon komplex módon befolyásolja az oxitocin rendszert, ráadásul jelenleg nem tudjuk biztosan, hogy ez közvetlen hatás, vagy a kokain monoamin neurotranszmitterekre kifejtett hatásainak közvetett következménye. Utóbbira utal, hogy a szelektív SERT, NET vagy DAT gátlók prenatálisan adva egyaránt mutatják a kokainra jellemző viselkedés és OT szintbeli eltérések bizonyos aspektusait, de a teljes kokain hatáshoz mindhárom neurotranszmitter rendszer módosítására szükség van (Cox és mtsai 2011; Williams és Johns 2014).

További alternatívaként megvizsgáltunk két hypothalamicus peptid (TIP39 és amylin) lehetséges diszregulációját. A TIP39 tartalmú PIL-beli neuronok a szoptatáshoz kapcsolódó szomatoszenzoros bemenet átkapcsoló pontjai, ily módon az anyai viselkedés és anyai motiváció bonyolult agyi hálózatának „bemenő oldalán” találhatóak (Dobolyi és mtsai 2018). Az PTH2R (mely a TIP39 endogén receptora) MPOA-beli gátlása CPP-ben az anyai motiváció csökkent volumenét mutatja, vagyis az így kezelt anyaállatok nem preferálják jobban a kölyök-asszociált dobozt (Cservenák és mtsai 2013). Ugyanekkor a prolaktin szint nem változik, így az anyai motiváció prolaktin hatáson keresztüli csökkenése valószínűtlen (Bridges és mtsai 1990; Cservenák és mtsai 2013). A TIP39 (és a hozzá neuroanatómiailag és funkcionálisan kapcsolódó amylin) mRNS expresszió in situ hybridizációval való mérésével egy, a mezolimbikus dopaminerg rendszertől független, de az anyai motivációra ható egység lehetséges eltérését szeretnénk volna vizsgálni, ezzel az MDPV alternatív támadáspontjait feltárni. Miután sem az amylin, sem a TIP39 mRNS in situ hybridizáció nem mutatott különbséget sem az expresszáló sejtek számában, sem az expresszió mértékében, így kizárhatjuk, hogy a kölykökből származó

szomatoszenzoros információk e rendszeren keresztüli elégtelen feldolgozása lenne a csökkent anyai motiváció oka.

A fejezet végén meg kell említeni, hogy a lehetséges hatásmechanizmusok számbavételekor a kokainnal végzett bármilyen összehasonlítás természetesen fenntartásokkal kezelendő. Bármennyi hasonlóság van is az MDPV és a kokain molekuláris célpontjai között, a különbségek semmiképpen sem hanyagolhatók el (1.3.3. fejezet), így a kokainból kiinduló fenti megállapítások nem bizonyítékok, csupán a jövőbeli kutatások fő csapásirányait jelölhetik ki.

5.4. Az MDPV apoptotikus hatása

Eredményeink arra utalnak, hogy MDPV egyszeri adagolása akutan képes apoptózist indukálni 7 napos fiatal egérben, ugyanez azonban felnőttben nem történik meg. A változások olyan pallialis vagy szubpallialis agyi régiókat érintettek, melyek szerepet játszanak az emóciók és a motiváció létrejöttében. Amikor összehasonlítottuk az apoptózist szenvedő sejtek számát az adott területen található összes sejt számával, azt találtuk, hogy legmagasabb arányban a nucleus accumbens (Ac) területén találhatóak kaspáz 3 pozitív sejtek. Más régiókban, mint a hippocampus CA1-es területe (Hp CA1), a retrosplenialis kéreg (RSp) vagy a piriform kéreg (Pir) ez az arány, bár a kontroll mintákhoz képest szignifikánsan nagyobb volt, számszerűleg jóval kisebb értéket jelent (Ádám és mtsai 2014).

A szelektív neurotoxicitás háttérben húzódó egyik lehetséges mechanizmus az e régiókban történő dopaminerg vagy noradrenerg (túl)aktiváció útján kiváltott excitotoxicitás (Simmler és mtsai 2013a), amely végül is funkcionális alapú szelekciót jelentene. Excitotoxicitás alatt azt a folyamatot értjük, mely során nagymértékű glutamát-receptor-stimuláció toxikus mértékű Ca^{2+} beáramlást okoz. A magas intracelluláris Ca^{2+} szint több jelátviteli útvonalat beindít, melyek során depolarizálódik a mitokondriális membrán, aktiválódik számos foszfolipáz, foszfatáz és proteáz enzim (pl. kaspázok, lásd 1.4. fejezet) és ezek végül a sejt halálát okozzák. A glutamát bármely receptora szerepet játszhat a folyamatban, ugyanakkor az NMDAR-t tartjuk a legfontosabb mediátornak, annak ioncsatornáján át ugyanis nagy kapacitású Ca^{2+} transzport valósulhat meg (Arundine és Tymianski 2003; Dong és mtsai 2009). A másik lehetőség az érintett sejtek olyan szelektív érzékenysége, mely nem kapcsolódik

feltétlenül a sejtek funkcionális aktivitásához. Utóbbira példa az a kísérlet, melyben nagy mocsáricsiga (*Lymnaea stagnalis*) izolált ganglionsejtjeit vizsgálva kimutatták, hogy a növényi eredetű katinon és a kokain is képes közvetlenül a kalcium csatornákra (koncentráció függően) hatni, míg önmagában a dopaminerg aktivációval ez nem érhető el (Vislobokov és mtsai 1993). Ez alapján az MDPV direkt, a monoaminerg rendszerektől független neurotoxikus hatása sem zárható ki. Sejtfelszíni, pontosabban CB1 receptoron át létrejövő, kaszpáz 3 aktivációt és ezzel az apoptózist a szintetikus kannabinoidok hatásaként már kimutattak előagyi neuron sejt kultúrában (Tomiya és Funada 2014). Egér striatumában pedig egyetlen adag metamfetamin is képes apoptózist indukálni, a különböző idegsejt típusokon eltérő mértékben, ami újabb jele a szelektív neurotoxicitásnak (Zhu és mtsai 2006). Azonban ezek a (mindig felnőtt szervezetben, érett sejteken nyert) eredmények még nem igazolnak összefüggést a vizsgált kábítószerrel viselkedési és sejtszintű hatásai között.

Patkány striatum amfetamin kezelése után kimutatták egy az asztrociták által termelt és felszabadított triptofán metabolit, a kinurénsav (KYNA) szintjének csökkenését (Poeggeler és mtsai 1998; 2007). Ha ilyenkor az excitotoxicitást kiváltó NMDA-t injektáltak a striatumba, akkor az excitotoxikus lézió többször akkora lett, mint amfetamin (vagy a nem szelektív DR agonista apomorfin) előzetes beadása nélkül. A KYNA szint csökkenése, és így az extenzív sejtpusztulás, kivédhető volt kinurénsav 3-hidroxiláz inhibitorral vagy akár a D1 akár a D2 antagonistájával (Poeggeler és mtsai 2007). Mindezek alapján a KYNA fontos láncszem abban a folyamatban, ahogy a dopaminerg aktiváció NMDAR-on keresztüli excitotoxicitást vált ki.

Felmerül a kérdés továbbá, hogy hogyan okozhat apoptózist az MDPV 7 napos egér központi idegrendszerében, miközben felnőtt állaton ugyanez nem tapasztalható? Avagy milyen jelentős különbség van az érett és az éretlen agy között, ami ezt a eredményt okozhatja? Erre lehetséges választ ad az NMDA receptor alegységeinek expressziója és eloszlása. Az NMDAR-ok heterotetramer szerkezetűek, két darab N1-es és két darab N2-es vagy N3-as alegységet tartalmaznak, az adott receptor alegység-összetétele pedig nagyban befolyásolja funkcióját. A számozott alegységtípusokból betűvel jelölt altípusok is léteznek (Sanz-Clemente és mtsai 2013). A jelenleg elfogadott elmélet szerint a periszinaptikusan elhelyezkedő NMDAR-ok, melyek az NR1 mellett NR2B alegységet tartalmaznak, főleg a glutamátnak a szinaptikus részből való

szétdiffundálásakor („túlcsordulásakor”) aktiválódnak. Ez a sejtet az apoptózis irányába tolja például azáltal, hogy a CREB (cyclic-AMP response element binding protein) és az ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase) sejttúlélést segítő faktorokat inaktíválják (Hardingham és mtsai 2002; Hardingham és Bading 2010). Éppen ellentétes ezzel a szinaptikus részben található NMDAR receptorok felépítése és funkciója: az NR2B helyett NR2A alegységet tartalmazó ioncsatornák aktivációja a neuron túlélését segíti elő (Liu és mtsai 2007; Sanz-Clemente és mtsai 2013). Lényeges továbbá, hogy az agy fejlődése során az eleinte többségben lévő NR2B tartalmú receptorok számbeli kisebbségbe szorúlnak az NR2A tartalmúakkal szemben, ez az ún. „NR2B-NR2A switch” (Liu és mtsai 2004; Gray és mtsai 2011), melynek lefolyása agyterületenként eltér és sohasem pillanatszerű (Bar-Shira és mtsai 2015). Egér hippocampusában az NR2B/NR2A arány a szülés utáni 7. napon 1,5 körül, a 18. napon már 0,8 körül alakul, ez pedig az NR2A alegység számbeli növekedésének tudható be, mialatt az NR2B nagyjából állandó marad (Sinclair és mtsai 2016). A felnőtt agy nucleus accumbensében, és más területeken is, az NR2A és B alegységek egyidejűleg jelen vannak és működőképeseek (Chergui 2011). Így tehát, amennyiben az MDPV képes az NR2B/NR2A arányt növelni, vagy esetleg bármely alegységen közvetlenül hatva befolyásolni annak aktivitását, az magyarázhatja az egyedfejlődés korai szakaszában (amikor még túlsúlyban vannak az NR2B alegységek) bekövetkező, de később elmaradó neurotoxikus hatást. Az utóbbira példa a szerotonin visszavételét szelektíven gátló, antidepresszánsként használt fluoxetin, mely az NR2B alegység gátlásán keresztül neuroprotektív hatású lehet (ugyanakkor ne feledjük, maga az MDPV nem hat a szerotonin visszavételre) (Vizi és mtsai 2013). Tovább bonyolítja a helyzetet, hogy fejlődő hippocampusban az NR2B alegység tartalmú receptorok pro- és antiapoptotikus folyamatokban is részt vehetnek (Martel és mtsai 2009), illetve bizonyos körülmények között egyszerre figyeltek meg neuroapoptózist és az NR2B alegység tartalmú receptorok expressziójának csökkenését (Fu és mtsai 2011). Tehát, adott esetben, az NR2B gátlása vagy expressziójának csökkenése is lehet proapoptotikus hatású. Az imént ismertetett elmélet limitációja, hogy nem veszi figyelembe a két darab NR1 mellett egy NR2A-t és egy NR2B-t együttesen tartalmazó, ún. triheteromér receptorokat, továbbá az NR2A és B helyett C vagy D alegységtípust tartalmazó receptorokat, melyek száma az újabb megfigyelések szerint jelentős lehet (Stroebel és mtsai 2018).

A dopaminerg szerek toxikus hatásában szerepe lehet a hyperthermiának is. A metamfetamin adáskor tapasztalt neurotoxicitás enyhíthető az állat testhőmérsékletének gyógyszeres csökkentésével, vagy alacsony hőmérsékletű környezetben tartásával (Ali és mtsai 1994; Bowyer és mtsai 1994). MDPV akut expozíciója után nem tudunk a 7 napos egerekben hyperthermiát kimutatni ez azonban aligha meglepő, ugyanis 20°C-os külső hőmérsékleten nem észlelhető dózisfüggő hyperthermia (Fantegrossi és mtsai 2013). Standard állatházi körülmények között az MDPV dózisfüggően emeli az agyszövet hőmérsékletet, de még a legmagasabb dózis esetén tapasztalt 2°C-os változás sem nevezhető nagyon súlyosnak (Kiyatkin és mtsai 2015). Összességében, az általunk elvégzett kísérletben az MDPV termoregulációra kifejtett hatása aligha lényeges a neurotoxicitás szempontjából.

A megfigyelt sejtpusztulás oka, paradox módon, a drog hatására aktiválódó neurogenesis is lehet, amit az új neuronok fokozott eliminációja követ, ahogy ezt felnőtt egerek striatumában METH bolus adagolása után felnőtt kimutatták (Tulloch és mtsai 2011).

További lehetséges mechanizmus lehet a neuronok megváltozott aktivációja. Erre utal, hogy az MDPV és az α -PVP akut expozíciója megváltoztatja a striatalis és hippocampalis neuronok alapaktivitását, ahogy az egy korai génexpressziót (c-Fos, Arc/Arg3.1) vizsgáló közleményből kiderül (Giannotti és mtsai 2017). Márpedig, az éretlen neuronok sorsát nagyban meghatározza azok aktivációs mintázata, melyet újszülött egerek kérgi régióiban vizsgáltak (Blanquie és mtsai 2017).

A kísérletünkben használt 7 napos egér megfeleltethető a humán terhesség harmadik trimeszterének, ami a központi idegrendszer fejlettségét illeti (Bayer és mtsai 1993). Az ebben az időszakban adott MDMA neurodegenerációt okoz, miközben 14 és 21 napos állatban nem (Dzietko és mtsai 2010). A megfigyelt kaszpáz 3 pozitív sejtek morfológiailag ép, érett neuronnak tűnnek és a sejtalkok többféle idegsejt-típust is reprezentálnak. Ez tehát arra utal, hogy a projekciós és interneuronok között nincs szelektivitás az MDPV hatását illetően. Az érintett sejtek karakterizálásán kívül jövőbeli kutatások célpontja lehet annak megállapítása, hogy a megfigyelt neurotoxicitásnak van-e bármilyen hatása az egyed későbbi fejlődésére, illetve, hogy prenatális MDPV expozíció után történik-e nagyobb mértékű sejtpusztulás.

Összefoglalva a leírtakat, a megfigyelések (hiperaktivitás, agitáció, anyai viselkedés zavara) háttérében állhat tehát az MDPV dopaminerg hatása, mely közvetve vagy közvetlenül a juvenilis életkorban jelentkező neurodegenerációt is magyarázhatja. Ez utóbbi létrejöhet az NMDAR-ok expressziójának vagy aktivitásának megváltozása útján is, melynek vizsgálata jövőbeli kutatásaink egyik iránya lehet.

Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy az MDPV és az új pszichoaktív szerek tartós zavart okozhatnak az anyai törődés, a harmonikus anya-gyermek kapcsolat létrejöttében, valamint károsíthatják a fejlődő központi idegrendszert. Mindezek alapján indokoltnak tűnik a terhesség folyamán szert használó anyák és ezáltal a szernek kitett újszülöttjeik, gyermekeik követése és lehetőségek szerinti terápiája.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

1) MDPV prenatális adagolása egerekben csökkenti az átlagos almonkénti utódszámot, gyakoribbá válnak a vemhességgel, szüléssel kapcsolatos komplikációk, de a 7. életnapon nem tapasztalható testsúlykülönbség, az utódok fejlettsége (látszólag) koruknak megfelelő.

MDPV prenatális adagolása következtében a 7 és 21 napos utódok egyaránt nagyobb lokomotor aktivitást mutatnak. Huszonegy napos életkorban nem mutatkozik különbség a motoros koordinációban.

2) A vemhesség alatti MDPV kezelés csökkenti az anyai viselkedés kifejeződését a fészeképítési és utódvisszahordási tesztekben. A két mérés között eltelt idő az anyai adaptáció hiányosságának tartós voltára utal. A hetedik életnapon az utódok normál testsúlya arra utal, hogy a szoptatás megfelelő, így az MDPV adagolása valószínűleg az anyai motivációval közvetlenül összefüggő egyéb viselkedésformákat befolyásolja.

Nem találtunk eltérést a TIP39 és amylin mRNS expressziójában a releváns agyterületeken, így ezen regulatív peptidrendszerek vélhetően nem játszanak szerepet az anyai viselkedés károsodásában.

3) Az MDPV neurotoxikus/neurodegeneratív hatását 7 napos egér több agyterületén is kimutattuk az apoptotikus sejtek kaszpáz 3 immunhisztokémiai detektálása és kvantifikálása alapján. Azonban az összes sejtszámhoz képest jelentősnek tűnő sejtpusztulás csak a nucleus accumbensben igazolódott. Felnőtt állatokban ugyanolyan körülmények közt adott MDPV nem okoz neurodegenerációt.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkám célja az új pszichoaktív szereket fogyasztó terhes anyák utódainak idegrendszeri fejlődését potenciálisan károsító tényezők vizsgálata volt, állatkísérletes modellben.

Jelen dolgozat első részében a szintetikus katinonok közé tartozó 3,4-metiléndioxipirovaleron (MDPV) vemhesség alatti adagolásának hatásait vizsgáltuk háziegér anyai adaptációjára, valamint az utódok viselkedésére. Az anyai viselkedést fészeképítési és utódvisszahordási teszttel vizsgáltuk, a 7 és 21 napos utódok és az anyaállatok esetében a lokomotoros aktivációt aréna teszttel és stabilográfiával, míg a 21 napos utódok és az anyák esetében a motoros koordinációt kapaszkodási teszttel értékeltük. Az anyaállatok friss, fagyasztott agymintáin két, az anyai adaptáció szempontjából releváns neuropeptid mRNS-ének expresszióját vizsgáltuk: a tuberoinfundibuláris peptid 39-et (TIP39) a thalamus posterior intramináris koplexében és az amylin a hypothalamus medialis preopticus areájában. MDPV adagolása a vemhesség 8. és 14. napja között csökkentette a születésszámot, növelte a szülés körüli komplikációk előfordulását, rontotta a fészeképítési és az utódvisszahordási tesztben elért eredményeket, azonban a TIP39 és az amylin mRNS expresszióját nem változtatta meg a vizsgált agyterületeken. A kezelt utódok lokomotoros aktivációja mindkét vizsgált életkorban szignifikánsan nagyobb volt, azonban az MDPV kezelés nem befolyásolta a motoros koordinációt. Az eredmények arra utalnak, hogy az MDPV vemhesség alatti krónikus adagolása csökkenti az utódok túlélését, tartós zavart okoz az anyai viselkedésben, valamint fokozza az utódok lokomotoros aktivitását.

A dolgozat második részében az MDPV neurotoxikus hatását vizsgáltuk. Hét napos egerek egyszeri MDPV kezelése utáni anti-kaspáz 3 immunhisztokémia az apoptotikus sejtek számának jelentős növekedését mutatta a piriform kéregben, a retrosplenialis areában, és a hippocampus CA1 régiójában, de legnagyobb mértékben a nucleus accumbensben. Az utóbbi agyterület különösen érzékenynek tűnik az MDPV hatásra, itt az összes sejt számával összehasonlítva is jelentős sejtpusztulás következett be. Ezek a neurodegeneratív változások felnőtt egeragyban nem válthatóak ki. Az eredményeink azt mutatják, hogy az MDPV életkortól függően és agyterületre szelektíven képes apoptózist kiváltani a központi idegrendszerben.

8. SUMMARY

The aim of the study was experimental investigation of the factors potentially harmful to the neural development in the offspring of pregnant mothers abusing novel psychoactive drugs.

In the first part of the work we examined the effects of the gestational administration of 3,4-methylenedioxypirovalerone (MDPV), a member of synthetic cathinones, on maternal adaptation as well as on the pups' behavior in mice. Maternal behavior was evaluated by using nest building and pup retrieval tests, the locomotor activation of 7-day-old, 21-day-old pups and dams by using open field test and force plate actometry, whereas the motor coordination of 21-day old pups and dams by using grip strength test. On fresh-frozen brain samples of dams we examined the expression of two neuropeptides implicated in the regulation of maternal adaptation: tuberoinfundibular peptide 39 (TIP39) mRNA in the thalamic posterior intralaminar complex, and amylin mRNA in the medial preoptic area. Administration of 10 mg/kg b.w. MDPV between the 8th and 14th gestational days decreased the birth rate, increased the incidence of perinatal complications and worsened the results of nest building and pup retrieval tests. However, the expression TIP39 mRNA or of amylin mRNA was not altered in the relevant brain areas. Locomotor activity of the pups was increased in the MDPV treated cohorts of both age groups, while motor coordination was unaffected. Our results suggest that chronic administration of MDPV to pregnant mice can reduce the survival rate of offspring, cause lasting disruption of maternal care, and it also enhances motility of the pups.

In the second part of our work we examined the neurotoxic effects of MDPV. After a single (bolus) administration of MDPV (which causes an acute increase in locomotor activity) to 7-day-old mice we performed anti-caspase 3 fluorescent immunohistochemistry. The number of apoptotic cells was raised significantly in the piriform cortex, retrosplenial area, hippocampus CA1 and, to the greatest extent, in the nucleus accumbens. The latter seems to be the most sensitive, since, following MDPV administration, the highest percentage of apoptotic cells as compared to total cell density was found here. These alterations could not be explained by hyperthermia, nor did they appear in the mature brain. The results are indicative of the existence of an age-dependent and region-dependent neurodegenerative effect of MDPV in the central nervous system.

9. IRODALOMJEGYZÉK

Aarde SM, Huang PK, Creehan KM, Dickerson TJ, Taffe MA. (2013) The novel recreational drug 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) is a potent psychomotor stimulant: self-administration and locomotor activity in rats. *Neuropharmacology*, 71: 130-140.

Acuff-Smith KD, Schilling MA, Fisher JE, Vorhees CV. (1996) Stage-specific effects of prenatal d-methamphetamine exposure on behavioral and eye development in rats. *Neurotoxicol Teratol*, 18: 199-215.

Ádám Á, Gerecsei LI, Lepesi N, Csillag A. (2014) Apoptotic effects of the 'designer drug' methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) on the neonatal mouse brain. *Neurotoxicology*, 44: 231-236.

Adamowicz P, Gieron J, Gil D, Lechowicz W, Skulska A, Tokarczyk B. (2015) The prevalence of new psychoactive substances in biological material - a three-year review of casework in Poland. *Drug Test Anal*, 8: 63-70.

Alenina N, Kikic D, Todiras M, Mosienko V, Qadri F, Plehm R, Boye P, Vilianovitch L, Sohr R, Tenner K, Hortnagl H, Bader M. (2009) Growth retardation and altered autonomic control in mice lacking brain serotonin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106: 10332-10337.

Ali SF, Newport GD, Holson RR, Slikker W, Jr., Bowyer JF. (1994) Low environmental temperatures or pharmacologic agents that produce hypothermia decrease methamphetamine neurotoxicity in mice. *Brain Res*, 658: 33-38.

Angoa-Perez M, Anneken JH, Kuhn DM. (2016) Neurotoxicology of Synthetic Cathinone Analogs. *Curr Top Behav Neurosci*, 32: 209-230.

Angoa-Perez M, Kane MJ, Francescutti DM, Sykes KE, Shah MM, Mohammed AM, Thomas DM, Kuhn DM. (2011) Mephedrone, an abused psychoactive component of 'bath salts' and methamphetamine congener, does not cause neurotoxicity to dopamine nerve endings of the striatum. *J Neurochem*, 120: 1097-1107.

Anneken JH, Angoa-Perez M, Kuhn DM. (2015) 3,4-Methylenedioxypropylamphetamine prevents while methylone enhances methamphetamine-induced damage to dopamine

nerve endings: beta-ketoamphetamine modulation of neurotoxicity by the dopamine transporter. *J Neurochem*, 133: 211-222.

Arendt RE, Short EJ, Singer LT, Minnes S, Hewitt J, Flynn S, Carlson L, Min MO, Klein N, Flannery D. (2004) Children prenatally exposed to cocaine: developmental outcomes and environmental risks at seven years of age. *J Dev Behav Pediatr*, 25: 83-90.

Arundine M, Tymianski M. (2003) Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium*, 34: 325-337.

Ashkenazi A, Dixit VM. (1998) Death receptors: signaling and modulation. *Science*, 281: 1305-1308.

Assi S, Gulyamova N, Kneller P, Osselton D. (2017) The effects and toxicity of cathinones from the users' perspectives: A qualitative study. *Hum Psychopharmacol*, 32.

Bade R, Bijlsma L, Sancho JV, Baz-Lomba JA, Castiglioni S, Castrignano E, Causanilles A, Gracia-Lor E, Kasprzyk-Hordern B, Kinyua J, McCall AK, van Nuijs ALN, Ort C, Plosz BG, Ramin P, Rousis NI, Ryu Y, Thomas KV, de Voogt P, Zuccato E, Hernandez F. (2016) Liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of synthetic cathinones and phenethylamines in influent wastewater of eight European cities. *Chemosphere*, 168: 1032-1041.

Bago AG, Dimitrov E, Saunders R, Seress L, Palkovits M, Usdin TB, Dobolyi A. (2009) Parathyroid hormone 2 receptor and its endogenous ligand tuberoinfundibular peptide of 39 residues are concentrated in endocrine, viscerosensory and auditory brain regions in macaque and human. *Neuroscience*, 162: 128-147.

Bandstra ES, Morrow CE, Anthony JC, Accornero VH, Fried PA. (2002) Longitudinal investigation of task persistence and sustained attention in children with prenatal cocaine exposure. *Neurotoxicol Teratol*, 23: 545-559.

Bar-Shira O, Maor R, Chechik G. (2015) Gene Expression Switching of Receptor Subunits in Human Brain Development. *PLoS Comput Biol*, 11: e1004559.

Baumann MH, Bukhari MO, Lehner KR, Anizan S, Rice KC, Concheiro M, Huestis MA. (2016) Neuropharmacology of 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV), Its Metabolites, and Related Analogs. *Curr Top Behav Neurosci*, 32: 93-117.

- Baumann MH, Partilla JS, Lehner KR. (2012a) Psychoactive "bath salts": not so soothing. *Eur J Pharmacol*, 698: 1-5.
- Baumann MH, Partilla JS, Lehner KR, Thorndike EB, Hoffman AF, Holy M, Rothman RB, Goldberg SR, Lupica CR, Sitte HH, Brandt SD, Tella SR, Cozzi NV, Schindler CW. (2012b) Powerful cocaine-like actions of 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV), a principal constituent of psychoactive 'bath salts' products. *Neuropsychopharmacology*, 38: 552-562.
- Baumann MH, Wang X, Rothman RB. (2006) 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) neurotoxicity in rats: a reappraisal of past and present findings. *Psychopharmacology (Berl)*, 189: 407-424.
- Bayer SA, Altman J, Russo RJ, Zhang X. (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, 14: 83-144.
- Beck O, Backberg M, Signell P, Helander A. (2017) Intoxications in the STRIDA project involving a panorama of psychostimulant propylamphetamine derivatives, MDPV copycats. *Clin Toxicol (Phila)*, 56: 256-263.
- Beck O, Franzen L, Backberg M, Signell P, Helander A. (2015) Intoxications involving MDPV in Sweden during 2010-2014: Results from the STRIDA project. *Clin Toxicol (Phila)*, 53: 865-873.
- Becskei C, Riediger T, Zund D, Wookey P, Lutz TA. (2004) Immunohistochemical mapping of calcitonin receptors in the adult rat brain. *Brain Res*, 1030: 221-233.
- Belton P, Sharngoe T, Maguire FM, Polhemus M. (2013) Cardiac infection and sepsis in 3 intravenous bath salts drug users. *Clin Infect Dis*, 56: e102-104.
- Blanquie O, Yang JW, Kilb W, Sharopov S, Sinning A, Luhmann HJ. (2017) Electrical activity controls area-specific expression of neuronal apoptosis in the mouse developing cerebral cortex. *Elife*, 6.
- Blum K, Foster Olive M, Wang KK, Febo M, Borsten J, Giordano J, Hauser M, Gold MS. (2013) Hypothesizing that designer drugs containing cathinones ("bath salts") have profound neuro-inflammatory effects and dangerous neurotoxic response following human consumption. *Med Hypotheses*, 81: 450-455.

- Blum K, Thanos PK, Oscar-Berman M, Febo M, Baron D, Badgaiyan RD, Gardner E, Demetrovics Z, Fahlke C, Haberstick BC, Dushaj K, Gold MS. (2015) Dopamine in the Brain: Hypothesizing Surfeit or Deficit Links to Reward and Addiction. *J Reward Defic Syndr*, 1: 95-104.
- Boatright KM, Salvesen GS. (2003) Mechanisms of caspase activation. *Curr Opin Cell Biol*, 15: 725-731.
- Borek HA, Holstege CP. (2012) Hyperthermia and multiorgan failure after abuse of "bath salts" containing 3,4-methylenedioxypyrovalerone. *Ann Emerg Med*, 60: 103-105.
- Bosch OJ. (2013) Maternal aggression in rodents: brain oxytocin and vasopressin mediate pup defence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 368: 20130085.
- Bosch OJ, Neumann ID. (2011) Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action. *Horm Behav*, 61: 293-303.
- Bowyer JF, Davies DL, Schmued L, Broening HW, Newport GD, Slikker W, Jr., Holson RR. (1994) Further studies of the role of hyperthermia in methamphetamine neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*, 268: 1571-1580.
- Bratton SB, Salvesen GS. (2010) Regulation of the Apaf-1-caspase-9 apoptosome. *J Cell Sci*, 123: 3209-3214.
- Bridges R, Rigerio B, Byrnes E, Yang L, Walker A. (2001) Central infusions of the recombinant human prolactin receptor antagonist, S179D-PRL, delay the onset of maternal behavior in steroid-primed, nulliparous female rats. *Endocrinology*, 142: 730-739.
- Bridges RS. (2014) Neuroendocrine regulation of maternal behavior. *Front Neuroendocrinol*, 36: 178-196.
- Bridges RS, Grimm CT. (1982) Reversal of morphine disruption of maternal behavior by concurrent treatment with the opiate antagonist naloxone. *Science*, 218: 166-168.
- Bridges RS, Numan M, Ronsheim PM, Mann PE, Lupini CE. (1990) Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 8003-8007.

- Bridges RS, Robertson MC, Shiu RP, Friesen HG, Stuer AM, Mann PE. (1996) Endocrine communication between conceptus and mother: placental lactogen stimulation of maternal behavior. *Neuroendocrinology*, 64: 57-64.
- Bridges RS, Ronsheim PM. (1990) Prolactin (PRL) regulation of maternal behavior in rats: bromocriptine treatment delays and PRL promotes the rapid onset of behavior. *Endocrinology*, 126: 837-848.
- Brown RSE, Aoki M, Ladyman SR, Phillipps HR, Wyatt A, Boehm U, Grattan DR. (2017) Prolactin action in the medial preoptic area is necessary for postpartum maternal nursing behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114: 10779-10784.
- Brunt TM, Poortman A, Niesink RJ, van den Brink W. (2010) Instability of the ecstasy market and a new kid on the block: mephedrone. *J Psychopharmacol*, 25: 1543-1547.
- Brunton PJ, Russell JA, Douglas AJ. (2008) Adaptive responses of the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis during pregnancy and lactation. *J Neuroendocrinol*, 20: 764-776.
- Buckingham-Howes S, Berger SS, Scaletti LA, Black MM. (2013) Systematic review of prenatal cocaine exposure and adolescent development. *Pediatrics*, 131: e1917-1936.
- Budzynska B, Boguszewska-Czubara A, Kruk-Slomka M, Kurzepa J, Biala G. (2015) Mephedrone and nicotine: oxidative stress and behavioral interactions in animal models. *Neurochem Res*, 40: 1083-1093.
- Buki B, Simon L, Garab S, Lundberg YW, Junger H, Straumann D. (2010) Sitting-up vertigo and trunk retropulsion in patients with benign positional vertigo but without positional nystagmus. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 82: 98-104.
- Burns K, Chethik L, Burns WJ, Clark R. (1991) Dyadic disturbances in cocaine-abusing mothers and their infants. *J Clin Psychol*, 47: 316-319.
- Byrnes EM, Rigerio BA, Bridges RS. (2002) Dopamine antagonists during parturition disrupt maternal care and the retention of maternal behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 73: 869-875.
- Cadet JL, Brannock C. (1998) Free radicals and the pathobiology of brain dopamine systems. *Neurochem Int*, 32: 117-131.

- Cadet JL, Krasnova IN, Jayanthi S, Lyles J. (2007) Neurotoxicity of substituted amphetamines: molecular and cellular mechanisms. *Neurotox Res*, 11: 183-202.
- Cameron KN, Kolanos R, Solis E, Jr., Glennon RA, De Felice LJ. (2012) Bath salts components mephedrone and methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) act synergistically at the human dopamine transporter. *Br J Pharmacol*, 168: 1750-1757.
- Capela JP, Carmo H, Remiao F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F. (2009) Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: an overview. *Mol Neurobiol*, 39: 210-271.
- Carroll FI, Lewin AH, Mascarella SW, Seltzman HH, Reddy PA. (2011) Designer drugs: a medicinal chemistry perspective. *Ann N Y Acad Sci*, 1248: 18-38.
- Causanilles A, Kinyua J, Ruttkies C, van Nuijs ALN, Emke E, Covaci A, de Voogt P. (2017) Qualitative screening for new psychoactive substances in wastewater collected during a city festival using liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. *Chemosphere*, 184: 1186-1193.
- Cernerud L, Eriksson M, Jonsson B, Steneroth G, Zetterstrom R. (1996) Amphetamine addiction during pregnancy: 14-year follow-up of growth and school performance. *Acta Paediatr*, 85: 204-208.
- Chakrabarti S, Munshi S, Banerjee K, Thakurta IG, Sinha M, Bagh MB. (2012) Mitochondrial Dysfunction during Brain Aging: Role of Oxidative Stress and Modulation by Antioxidant Supplementation. *Aging Dis*, 2: 242-256.
- Champagne FA, Chretien P, Stevenson CW, Zhang TY, Gratton A, Meaney MJ. (2004) Variations in nucleus accumbens dopamine associated with individual differences in maternal behavior in the rat. *J Neurosci*, 24: 4113-4123.
- Chang L, Smith LM, LoPresti C, Yonekura ML, Kuo J, Walot I, Ernst T. (2004) Smaller subcortical volumes and cognitive deficits in children with prenatal methamphetamine exposure. *Psychiatry Res*, 132: 95-106.
- Chen C, Kostakis C, Irvine RJ, White JM. (2013) Increases in use of novel synthetic stimulant are not directly linked to decreased use of 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine (MDMA). *Forensic Sci Int*, 231: 278-283.

- Chergui K. (2011) Dopamine induces a GluN2A-dependent form of long-term depression of NMDA synaptic responses in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 60: 975-981.
- Choi SJ, Mazziro E, Kolta MG, Soliman KF. (1998) Prenatal cocaine exposure affects postnatal dopaminergic systems in various regions of the rat brain. *Ann N Y Acad Sci*, 844: 293-302.
- Colado MI, O'Shea E, Granados R, Misra A, Murray TK, Green AR. (1997) A study of the neurotoxic effect of MDMA ('ecstasy') on 5-HT neurones in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. *Br J Pharmacol*, 121: 827-833.
- Colorado RA, Shumake J, Conejo NM, Gonzalez-Pardo H, Gonzalez-Lima F. (2005) Effects of maternal separation, early handling, and standard facility rearing on orienting and impulsive behavior of adolescent rats. *Behav Processes*, 71: 51-58.
- Corona R, Levy F. (2014) Chemical olfactory signals and parenthood in mammals. *Horm Behav*, 68: 77-90.
- Cox ET, Jarrett TM, McMurray MS, Greenhill K, Hofler VE, Williams SK, Joyner PW, Middleton CL, Walker CH, Johns JM. (2011) Combined norepinephrine/serotonergic reuptake inhibition: effects on maternal behavior, aggression, and oxytocin in the rat. *Front Psychiatry*, 2: 34.
- Crabbe JC, Cotnam CJ, Cameron AJ, Schlumbohm JP, Rhodes JS, Metten P, Wahlsten D. (2003) Strain differences in three measures of ethanol intoxication in mice: the screen, dowel and grip strength tests. *Genes Brain Behav*, 2: 201-213.
- Crandall JE, McCarthy DM, Araki KY, Sims JR, Ren JQ, Bhide PG. (2007) Dopamine receptor activation modulates GABA neuron migration from the basal forebrain to the cerebral cortex. *J Neurosci*, 27: 3813-3822.
- Cservenak M, Bodnar I, Usdin TB, Palkovits M, Nagy GM, Dobolyi A. (2010) Tuberoinfundibular peptide of 39 residues is activated during lactation and participates in the suckling-induced prolactin release in rat. *Endocrinology*, 151: 5830-5840.
- Cservenak M, Keller D, Kis V, Fazekas EA, Ollos H, Leko AH, Szabo ER, Renner E, Usdin TB, Palkovits M, Dobolyi A. (2016) A Thalamo-Hypothalamic Pathway That

Activates Oxytocin Neurons in Social Contexts in Female Rats. *Endocrinology*, 158: 335-348.

Cservenak M, Szabo ER, Bodnar I, Leko A, Palkovits M, Nagy GM, Usdin TB, Dobolyi A. (2013) Thalamic neuropeptide mediating the effects of nursing on lactation and maternal motivation. *Psychoneuroendocrinology*, 38: 3070-3084.

Daniels WM, Pietersen CY, Carstens ME, Stein DJ. (2004) Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab Brain Dis*, 19: 3-14.

Davis C, Loxton NJ. (2013) Addictive behaviors and addiction-prone personality traits: associations with a dopamine multilocus genetic profile. *Addict Behav*, 38: 2306-2312.

Denault JB, Eckelman BP, Shin H, Pop C, Salvesen GS. (2007) Caspase 3 attenuates XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein)-mediated inhibition of caspase 9. *Biochem J*, 405: 11-19.

Dennis T, Bendersky M, Ramsay D, Lewis M. (2006) Reactivity and regulation in children prenatally exposed to cocaine. *Dev Psychol*, 42: 688-697.

Di Chiara G, Imperato A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 85: 5274-5278.

Dobolyi A. (2009) Central amylin expression and its induction in rat dams. *J Neurochem*, 111: 1490-1500.

Dobolyi A. (2011) Novel potential regulators of maternal adaptations during lactation: tuberoinfundibular peptide 39 and amylin. *J Neuroendocrinol*, 23: 1002-1008.

Dobolyi A, Cservenak M, Young LJ. (2018) Thalamic integration of social stimuli regulating parental behavior and the oxytocin system. *Front Neuroendocrinol*, 51: 102-115.

Dobolyi A, Irwin S, Wang J, Usdin TB. (2006) The distribution and neurochemistry of the parathyroid hormone 2 receptor in the rat hypothalamus. *Neurochem Res*, 31: 227-236.

- Dobolyi A, Palkovits M, Usdin TB. (2003) Expression and distribution of tuberoinfundibular peptide of 39 residues in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 455: 547-566.
- Dong XX, Wang Y, Qin ZH. (2009) Molecular mechanisms of excitotoxicity and their relevance to pathogenesis of neurodegenerative diseases. *Acta Pharmacol Sin*, 30: 379-387.
- Dorairaj JJ, Healy C, McMenemy M, Eadie PA. (2011) The untold truth about "bath salt" highs: A case series demonstrating local tissue injury. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 65: e37-41.
- Dragogna F, Oldani L, Buoli M, Altamura AC. (2014) A case of severe psychosis induced by novel recreational drugs. *F1000Res*, 3: 21.
- Dulac C, O'Connell LA, Wu Z. (2014) Neural control of maternal and paternal behaviors. *Science*, 345: 765-770.
- Dzietko M, Sifringer M, Klaus J, Endesfelder S, Brait D, Hansen HH, Bendix I, Felderhoff-Mueser U. (2010) Neurotoxic effects of MDMA (ecstasy) on the developing rodent brain. *Dev Neurosci*, 32: 197-207.
- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. (2000) Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annu Rev Biochem*, 68: 383-424.
- Eiden RD, Schuetze P, Coles CD. (2011) Maternal cocaine use and mother-infant interactions: Direct and moderated associations. *Neurotoxicol Teratol*, 33: 120-128.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. (2017) *European Drug Report 2017: Trends and Developments*. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. (2018) *European Drug Report 2018: Trends and Developments*. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Eurojust. (2016) *New psychoactive substances in Europe: Legislation and prosecution — current challenges and solutions*, EMCDDA–Eurojust joint publication. Publications Office of the European Union, Luxembourg.

Eze N, Smith LM, LaGasse LL, Derauf C, Newman E, Arria A, Huestis MA, Della Grotta SA, Dansereau LM, Neal C, Lester BM. (2016) School-Aged Outcomes following Prenatal Methamphetamine Exposure: 7.5-Year Follow-Up from the Infant Development, Environment, and Lifestyle Study. *J Pediatr*, 170: 34-38.e31.

Fantegrossi WE, Gannon BM, Zimmerman SM, Rice KC. (2012) In vivo effects of abused 'bath salt' constituent 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV) in mice: drug discrimination, thermoregulation, and locomotor activity. *Neuropsychopharmacology*, 38: 563-573.

Favrod-Coune T, Broers B. (2010) The Health Effect of Psychostimulants: A Literature Review. *Pharmaceuticals (Basel)*, 3: 2333-2361.

Ferris CF, Kulkarni P, Sullivan JM, Jr., Harder JA, Messenger TL, Febo M. (2005) Pup suckling is more rewarding than cocaine: evidence from functional magnetic resonance imaging and three-dimensional computational analysis. *J Neurosci*, 25: 149-156.

Ferris MJ, Mateo Y, Roberts DC, Jones SR. (2010) Cocaine-insensitive dopamine transporters with intact substrate transport produced by self-administration. *Biol Psychiatry*, 69: 201-207.

Fialova M, Sirova J, Bubenikova-Valesova V, Slamberova R. (2015) The effect of prenatal methamphetamine exposure on recognition memory in adult rats. *Prague Med Rep*, 116: 31-39.

Freudenmann RW, Oxler F, Bernschneider-Reif S. (2006) The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. *Addiction*, 101: 1241-1245.

Froberg BA, Levine M, Beuhler MC, Judge BS, Moore PW, Engebretsen KM, McKeown NJ, Rosenbaum CD, Young AC, Rusyniak DE. (2014) Acute Methylenedioxypropylvalerone Toxicity. *J Med Toxicol*, 11: 185-194.

Fu L, Tang R, Bao N, Wang J, Ma H. (2011) Ketamine and propofol in combination induce neuroapoptosis and down-regulate the expression of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor NR2B subunit in rat forebrain culture. *Pharmazie*, 66: 771-776.

Gannon BM, Galindo KI, Mesmin MP, Rice KC, Collins GT. (2017a) Reinforcing Effects of Binary Mixtures of Common Bath Salt Constituents: Studies with 3,4-

Methylenedioxypropylamphetamine (MDPV), 3,4-Methylenedioxyamphetamine (methylone), and Caffeine in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 43: 761-769.

Gannon BM, Russell LN, Modi MS, Rice KC, Fantegrossi WE. (2017b) Effects of orally self-administered bath salt constituent 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) in mice. *Drug Alcohol Depend*, 179: 408-415.

Gannon BM, Williamson A, Rice KC, Fantegrossi WE. (2017c) Role of monoaminergic systems and ambient temperature in bath salts constituent 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV)-elicited hyperthermia and locomotor stimulation in mice. *Neuropharmacology*, 134: 13-21.

Gannon BM, Williamson A, Suzuki M, Rice KC, Fantegrossi WE. (2016) Stereoselective Effects of Abused "Bath Salt" Constituent 3,4-Methylenedioxypropylamphetamine in Mice: Drug Discrimination, Locomotor Activity, and Thermoregulation. *J Pharmacol Exp Ther*, 356: 615-623.

Garfein RS, Vlahov D, Galai N, Doherty MC, Nelson KE. (1996) Viral infections in short-term injection drug users: the prevalence of the hepatitis C, hepatitis B, human immunodeficiency, and human T-lymphotropic viruses. *Am J Public Health*, 86: 655-661.

Gendle MH, White TL, Strawderman M, Mactutus CF, Booze RM, Levitsky DA, Strupp BJ. (2004) Enduring effects of prenatal cocaine exposure on selective attention and reactivity to errors: evidence from an animal model. *Behav Neurosci*, 118: 290-297.

George ED, Bordner KA, Elwafi HM, Simen AA. (2010) Maternal separation with early weaning: a novel mouse model of early life neglect. *BMC Neurosci*, 11: 123.

Gerecsei LI, Csillag A, Zachar G, Gévai L, Simon L, Dobolyi Á, Ádám Á. (2018) Gestational Exposure to the Synthetic Cathinone Methylenedioxypropylamphetamine Results in Reduced Maternal Care and Behavioral Alterations in Mouse Pups. *Front Neurosci*, 12: 27

German CL, Fleckenstein AE, Hanson GR. (2013) Bath salts and synthetic cathinones: an emerging designer drug phenomenon. *Life Sci*, 97: 2-8.

- Giannotti G, Canazza I, Caffino L, Bilel S, Ossato A, Fumagalli F, Marti M. (2017) The Cathinones MDPV and alpha-PVP Elicit Different Behavioral and Molecular Effects Following Acute Exposure. *Neurotox Res*, 32: 594-602.
- Gimpl G, Fahrenholz F. (2001) The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev*, 81: 629-683.
- Giordano AL, Johnson AE, Rosenblatt JS. (1990) Haloperidol-induced disruption of retrieval behavior and reversal with apomorphine in lactating rats. *Physiol Behav*, 48: 211-214.
- Girault JA. (2012) Integrating neurotransmission in striatal medium spiny neurons. *Adv Exp Med Biol*, 970: 407-429.
- Giros B, Wang YM, Suter S, McLeskey SB, Pifl C, Caron MG. (1994) Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J Biol Chem*, 269: 15985-15988.
- Glatt SJ, Bolanos CA, Trksak GH, Crowder-Dupont C, Jackson D. (2000) Prenatal cocaine exposure alters behavioral and neurochemical sensitization to amphetamine in adult rats. *Neuropharmacology*, 39: 599-610.
- Glocker ML, Langleben DD, Ruparel K, Loughhead JW, Valdez JN, Griffin MD, Sachser N, Gur RC. (2009) Baby schema modulates the brain reward system in nulliparous women. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106: 9115-9119.
- Gong W, Neill DB, Lynn M, Justice JB, Jr. (1999) Dopamine D1/D2 agonists injected into nucleus accumbens and ventral pallidum differentially affect locomotor activity depending on site. *Neuroscience*, 93: 1349-1358.
- Gonzalez D, Ventura M, Caudevilla F, Torrens M, Farre M. (2013) Consumption of new psychoactive substances in a Spanish sample of research chemical users. *Hum Psychopharmacol*, 28: 332-340.
- Goodwin GA, Heyser CJ, Moody CA, Rajachandran L, Molina VA, Arnold HM, McKinzie DL, Spear NE, Spear LP. (1992) A fostering study of the effects of prenatal cocaine exposure: II. Offspring behavioral measures. *Neurotoxicol Teratol*, 14: 423-432.

- Grace SL, Evindar A, Stewart DE. (2003) The effect of postpartum depression on child cognitive development and behavior: a review and critical analysis of the literature. *Arch Womens Ment Health*, 6: 263-274.
- Gray BA, Holland C. (2014) Implications of psychoactive 'bath salts' use during pregnancy. *Nurs Womens Health*, 18: 220-230.
- Gray JA, Shi Y, Usui H, During MJ, Sakimura K, Nicoll RA. (2011) Distinct modes of AMPA receptor suppression at developing synapses by GluN2A and GluN2B: single-cell NMDA receptor subunit deletion in vivo. *Neuron*, 71: 1085-1101.
- Gubernick DJ, Alberts JR. (1983) Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls. *Physiol Behav*, 31: 593-601.
- Halpin LE, Collins SA, Yamamoto BK. (2013) Neurotoxicity of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Life Sci*, 97: 37-44.
- Hanics J, Balint E, Milanovich D, Zachar G, Adam A, Csillag A. (2012) Amygdalofugal axon terminals immunoreactive for L-aspartate or L-glutamate in the nucleus accumbens of rats and domestic chickens: a comparative electron microscopic immunocytochemical study combined with anterograde pathway tracing. *Cell Tissue Res*, 350: 409-423.
- Hansen S, Bergvall AH, Nyiredi S. (1993) Interaction with pups enhances dopamine release in the ventral striatum of maternal rats: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav*, 45: 673-676.
- Hansen S, Harthon C, Wallin E, Lofberg L, Svensson K. (1991) The effects of 6-OHDA-induced dopamine depletions in the ventral or dorsal striatum on maternal and sexual behavior in the female rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 39: 71-77.
- Hardingham GE, Bading H. (2010) Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurosci*, 11: 682-696.
- Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H. (2002) Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci*, 5: 405-414.

- Hasic M, Misztal T. (2018) Adaptive Modifications of Maternal Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Activity during Lactation and Salsolinol as a New Player in this Phenomenon. *Int J Endocrinol*, 2018: 3786038.
- Hassan NA, Gunaid AA, Murray-Lyon IM. (2007) Khat (*Catha edulis*): health aspects of khat chewing. *East Mediterr Health J*, 13: 706-718.
- He N, Bai J, Champoux M, Suomi SJ, Lidow MS. (2004) Neurobehavioral deficits in neonatal rhesus monkeys exposed to cocaine in utero. *Neurotoxicol Teratol*, 26: 13-21.
- Henderson MG, McMillen BA. (1993) Changes in dopamine, serotonin and their metabolites in discrete brain areas of rat offspring after in utero exposure to cocaine or related drugs. *Teratology*, 48: 421-430.
- Henschen CW, Palmiter RD, Darvas M. (2013) Restoration of dopamine signaling to the dorsal striatum is sufficient for aspects of active maternal behavior in female mice. *Endocrinology*, 154: 4316-4327.
- Hertzman C. (2014) The significance of early childhood adversity. *Paediatr Child Health*, 18: 127-128.
- Hess SE, Rohr S, Dufour BD, Gaskill BN, Pajor EA, Garner JP. (2008) Home improvement: C57BL/6J mice given more naturalistic nesting materials build better nests. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 47: 25-31.
- Hicks C, Huang P, Ramos L, Nayak SU, Caro Y, Reitz AB, Smith GR, Lee DY, Rawls SM, Liu-Chen LY. (2018) Dopamine D1-Like Receptor Agonist and D2-Like Receptor Antagonist (-)-Stepholidine Reduces Reinstatement of Drug-Seeking Behavior for 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) in Rats. *ACS Chem Neurosci*, 9: 1327-1337.
- Ho E, Karimi-Tabesh L, Koren G. (2002) Characteristics of pregnant women who use ecstasy (3, 4-methylenedioxymethamphetamine). *Neurotoxicol Teratol*, 23: 561-567.
- Horsley RR, Lhotkova E, Hajkova K, Feriancikova B, Himl M, Kuchar M, Palenicek T. (2018) Behavioural, Pharmacokinetic, Metabolic, and Hyperthermic Profile of 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV) in the Wistar Rat. *Front Psychiatry*, 9: 144.

- Hrebickova I, Sevcikova M, Nohejlova K, Slamberova R. (2016) Does effect from developmental methamphetamine exposure on spatial learning and memory depend on stage of neuroontogeny? *Physiol Res*, 65: S577-s589.
- Hser YI, Evans E, Li L, Metchik-Gaddis A, Messina N. (2013) Children of treated substance-abusing mothers: a 10-year prospective study. *Clin Child Psychol Psychiatry*, 19: 217-232.
- Hutchings DE, Fico TA, Dow-Edwards DL. (1989) Prenatal cocaine: maternal toxicity, fetal effects and locomotor activity in rat offspring. *Neurotoxicol Teratol*, 11: 65-69.
- Ikemoto S. (2007) Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Res Rev*, 56: 27-78.
- Inman-Wood SL, Williams MT, Morford LL, Vorhees CV. (2000) Effects of prenatal cocaine on Morris and Barnes maze tests of spatial learning and memory in the offspring of C57BL/6J mice. *Neurotoxicol Teratol*, 22: 547-557.
- Jablonski SA, Williams MT, Vorhees CV. (2015) Neurobehavioral Effects from Developmental Methamphetamine Exposure. *Curr Top Behav Neurosci*, 29: 183-230.
- Jarrett TM, McMurray MS, Walker CH, Johns JM. (2006) Cocaine treatment alters oxytocin receptor binding but not mRNA production in postpartum rat dams. *Neuropeptides*, 40: 161-167.
- Jimenez A, Jorda EG, Verdaguer E, Pubill D, Sureda FX, Canudas AM, Escubedo E, Camarasa J, Camins A, Pallas M. (2004) Neurotoxicity of amphetamine derivatives is mediated by caspase pathway activation in rat cerebellar granule cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 196: 223-234.
- Johns JM, Elliott DL, Hofler VE, Joyner PW, McMurray MS, Jarrett TM, Haslup AM, Middleton CL, Elliott JC, Walker CH. (2006) Cocaine treatment and prenatal environment interact to disrupt intergenerational maternal behavior in rats. *Behav Neurosci*, 119: 1605-1618.
- Johns JM, Lubin DA, Walker CH, Meter KE, Mason GA. (1997) Chronic gestational cocaine treatment decreases oxytocin levels in the medial preoptic area, ventral tegmental area and hippocampus in Sprague-Dawley rats. *Neuropeptides*, 31: 439-443.

- Johns JM, Noonan LR, Zimmerman LI, Li L, Pedersen CA. (1994) Effects of chronic and acute cocaine treatment on the onset of maternal behavior and aggression in Sprague-Dawley rats. *Behav Neurosci*, 108: 107-112.
- Johnson AL, Morrow CE, Accornero VH, Xue L, Anthony JC, Bandstra ES. (2002) Maternal cocaine use: estimated effects on mother-child play interactions in the preschool period. *J Dev Behav Pediatr*, 23: 191-202.
- Kabir ZD, Kennedy B, Katzman A, Lahvis GP, Kosofsky BE. (2014) Effects of prenatal cocaine exposure on social development in mice. *Dev Neurosci*, 36: 338-346.
- Kalix P. (1981) Cathinone, an alkaloid from khat leaves with an amphetamine-like releasing effect. *Psychopharmacology (Berl)*, 74: 269-270.
- Kandari LS, Yadav HR, Thakur AK, Kandari T. (2014) Chat (*Catha edulis*): a socio economic crop in Harar Region, Eastern Ethiopia. *Springerplus*, 3: 579.
- Kankaanpaa A, Ariniemi K, Heinonen M, Kuoppasalmi K, Gunnar T. (2013) Use of illicit stimulant drugs in Finland: a wastewater study in ten major cities. *Sci Total Environ*, 487: 696-702.
- Karila L, Lafaye G, Scocard A, Cottencin O, Benyamina A. (2017) MDPV and alpha-PVP use in humans: The twisted sisters. *Neuropharmacology*, 134: 65-72.
- Karlsson L, Andersson M, Kronstrand R, Kugelberg FC. (2014) Mephedrone, methylone and 3,4-methylenedioxypropylone (MDPV) induce conditioned place preference in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 115: 411-416.
- Katchman E, Ben-Ami R, Savyon M, Chemtob D, Avidor B, Wasserman A, Zeldis I, Girshengorn S, Amitai Z, Sheffer R, Turner D. (2016) Successful control of a large outbreak of HIV infection associated with injection of cathinone derivatives in Tel Aviv, Israel. *Clin Microbiol Infect*, 23: 336.e335-336.e338.
- Kavanagh PV, Power JD. (2014) New psychoactive substances legislation in Ireland - Perspectives from academia. *Drug Test Anal*, 6: 884-891.
- Keer SE, Stern JM. (1999) Dopamine receptor blockade in the nucleus accumbens inhibits maternal retrieval and licking, but enhances nursing behavior in lactating rats. *Physiol Behav*, 67: 659-669.

Keller RW, Jr., Maisonneuve IM, Nuccio DM, Carlson JN, Glick SD. (1994) Effects of prenatal cocaine exposure on the nigrostriatal dopamine system: an in vivo microdialysis study in the rat. *Brain Res*, 634: 266-274.

Kelley SJ, Walsh JH, Thompson K. (1991) Birth outcomes, health problems, and neglect with prenatal exposure to cocaine. *Pediatr Nurs*, 17: 130-136.

Kesha K, Boggs CL, Ripple MG, Allan CH, Levine B, Jufer-Phipps R, Doyon S, Chi P, Fowler DR. (2013) Methylenedioxypropylvalerone ("bath salts"), related death: case report and review of the literature. *J Forensic Sci*, 58: 1654-1659.

Khan S, Shaheen F, Sarwar H, Molina J, Mushtaq S. (2013) "Bath salts"-induced psychosis in a young woman. *Prim Care Companion CNS Disord*, 15.

King HE, Wetzell B, Rice KC, Riley AL. (2014) An assessment of MDPV-induced place preference in adult Sprague-Dawley rats. *Drug Alcohol Depend*, 146: 116-119.

King LA, Kicman AT. (2011) A brief history of 'new psychoactive substances'. *Drug Test Anal*, 3: 401-403.

Kinsley CH. (1994) Developmental psychobiological influences on rodent parental behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 18: 269-280.

Kita T, Wagner GC, Nakashima T. (2003) Current research on methamphetamine-induced neurotoxicity: animal models of monoamine disruption. *J Pharmacol Sci*, 92: 178-195.

Kiyatkin EA, Kim AH, Wakabayashi KT, Baumann MH, Shaham Y. (2014) Effects of social interaction and warm ambient temperature on brain hyperthermia induced by the designer drugs methylone and MDPV. *Neuropsychopharmacology*, 40: 436-445.

Kolanos R, Partilla JS, Baumann MH, Hutsell BA, Banks ML, Negus SS, Glennon RA. (2015) Stereoselective Actions of Methylenedioxypropylvalerone (MDPV) To Inhibit Dopamine and Norepinephrine Transporters and Facilitate Intracranial Self-Stimulation in Rats. *ACS Chem Neurosci*, 6: 771-777.

Kolanos R, Solis E, Jr., Sakloth F, De Felice LJ, Glennon RA. (2013) "Deconstruction" of the abused synthetic cathinone methylenedioxypropylvalerone (MDPV) and an

examination of effects at the human dopamine transporter. *ACS Chem Neurosci*, 4: 1524-1529.

Koprlich JB, Chen EY, Kanaan NM, Campbell NG, Kordower JH, Lipton JW. (2003) Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters exploratory behavior, reduces monoamine metabolism, and increases forebrain tyrosine hydroxylase fiber density of juvenile rats. *Neurotoxicol Teratol*, 25: 509-517.

Kosofsky BE, Wilkins AS. (1998) A mouse model of transplacental cocaine exposure. Clinical implications for exposed infants and children. *Ann N Y Acad Sci*, 846: 248-261.

Kriikku P, Rintatalo J, Pihlainen K, Hurme J, Ojanpera I. (2015) The effect of banning MDPV on the incidence of MDPV-positive findings among users of illegal drugs and on court decisions in traffic cases in Finland. *Int J Legal Med*, 129: 741-749.

Kromkhun P, Katou M, Hashimoto H, Terada M, Moon C, Saito TR. (2013) Quantitative and qualitative analysis of rat pup ultrasonic vocalization sounds induced by a hypothermic stimulus. *Lab Anim Res*, 29: 77-83.

Kuczkowski KM, Benumof JL. (2003) Amphetamine abuse in pregnancy: anesthetic implications. *Acta Anaesthesiol Belg*, 54: 161-163.

Kunko PM, Moyer D, Robinson SE. (1993) Intravenous gestational cocaine in rats: effects on offspring development and weanling behavior. *Neurotoxicol Teratol*, 15: 335-344.

Kwak HR, Lee JW, Kwon KJ, Kang CD, Cheong IY, Chun W, Kim SS, Lee HJ. (2009) Maternal social separation of adolescent rats induces hyperactivity and anxiolytic behavior. *Korean J Physiol Pharmacol*, 13: 79-83.

LaGasse LL, Derauf C, Smith LM, Newman E, Shah R, Neal C, Arria A, Huestis MA, DellaGrotta S, Lin H, Dansereau LM, Lester BM. (2012) Prenatal methamphetamine exposure and childhood behavior problems at 3 and 5 years of age. *Pediatrics*, 129: 681-688.

LaGasse LL, Messinger D, Lester BM, Seifer R, Tronick EZ, Bauer CR, Shankaran S, Bada HS, Wright LL, Smeriglio VL, Finnegan LP, Maza PL, Liu J. (2003) Prenatal drug exposure and maternal and infant feeding behaviour. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 88: F391-399.

- Landi N, Avery T, Crowley MJ, Wu J, Mayes L. (2017) Prenatal Cocaine Exposure Impacts Language and Reading Into Late Adolescence: Behavioral and ERP Evidence. *Dev Neuropsychol*, 42: 369-386.
- Le Foll B, Gallo A, Le Strat Y, Lu L, Gorwood P. (2009) Genetics of dopamine receptors and drug addiction: a comprehensive review. *Behav Pharmacol*, 20: 1-17.
- Lee A, Clancy S, Fleming AS. (2000) Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the mpoa and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup-reinforcement. *Behav Brain Res*, 108: 215-231.
- Lee CT, Chen J, Worden LT, Freed WJ. (2010) Cocaine causes deficits in radial migration and alters the distribution of glutamate and GABA neurons in the developing rat cerebral cortex. *Synapse*, 65: 21-34.
- Leffler AM, Smith PB, de Armas A, Dorman FL. (2014) The analytical investigation of synthetic street drugs containing cathinone analogs. *Forensic Sci Int*, 234: 50-56.
- Leslie CA, Robertson MW, Jung AB, Liebermann J, Bennett JP, Jr. (1994) Effects of prenatal cocaine exposure upon postnatal development of neostriatal dopaminergic function. *Synapse*, 17: 210-215.
- Lester BM, Tronick EZ, LaGasse L, Seifer R, Bauer CR, Shankaran S, Bada HS, Wright LL, Smeriglio VL, Lu J, Finnegan LP, Maza PL. (2002) The maternal lifestyle study: effects of substance exposure during pregnancy on neurodevelopmental outcome in 1-month-old infants. *Pediatrics*, 110: 1182-1192.
- Levy F, Keller M. (2009) Olfactory mediation of maternal behavior in selected mammalian species. *Behav Brain Res*, 200: 336-345.
- Levy F, Poindron P, Le Neindre P. (1983) Attraction and repulsion by amniotic fluids and their olfactory control in the ewe around parturition. *Physiol Behav*, 31: 687-692.
- Lewis BA, Minnes S, Short EJ, Weishampel P, Satayathum S, Min MO, Nelson S, Singer LT. (2010) The effects of prenatal cocaine on language development at 10 years of age. *Neurotoxicol Teratol*, 33: 17-24.
- Li M. (2015) Antipsychotic drugs on maternal behavior in rats. *Behav Pharmacol*, 26: 616-626.

- Li M, Budin R, Fleming AS, Kapur S. (2005) Effects of chronic typical and atypical antipsychotic drug treatment on maternal behavior in rats. *Schizophr Res*, 75: 325-336.
- Lippard ET, Jarrett TM, McMurray MS, Zeskind PS, Garber KA, Zoghby CR, Glaze K, Tate W, Johns JM. (2014) Early postpartum pup preference is altered by gestational cocaine treatment: associations with infant cues and oxytocin expression in the MPOA. *Behav Brain Res*, 278: 176-185.
- Lisk RD. (1971) Oestrogen and progesterone synergism and elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). *Anim Behav*, 19: 606-610.
- Lisk RD, Pretlow RA, 3rd, Friedman SM. (1969) Hormonal stimulation necessary for elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). *Anim Behav*, 17: 730-737.
- Little BB, Snell LM, Gilstrap LC, 3rd. (1988) Methamphetamine abuse during pregnancy: outcome and fetal effects. *Obstet Gynecol*, 72: 541-544.
- Liu XB, Murray KD, Jones EG. (2004) Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development. *J Neurosci*, 24: 8885-8895.
- Liu Y, Wong TP, Aarts M, Rooyakkers A, Liu L, Lai TW, Wu DC, Lu J, Tymianski M, Craig AM, Wang YT. (2007) NMDA receptor subunits have differential roles in mediating excitotoxic neuronal death both in vitro and in vivo. *J Neurosci*, 27: 2846-2857.
- Londei T, Segala P, Leone VG. (1989) Mouse pup urine as an infant signal. *Physiol Behav*, 45: 579-583.
- Lonstein JS, Gammie SC. (2003) Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neurosci Biobehav Rev*, 26: 869-888.
- Lonstein JS, Levy F, Fleming AS. (2015) Common and divergent psychobiological mechanisms underlying maternal behaviors in non-human and human mammals. *Horm Behav*, 73: 156-185.
- Lopez-Arnau R, Martinez-Clemente J, Abad S, Pubill D, Camarasa J, Escubedo E. (2014a) Repeated doses of methylone, a new drug of abuse, induce changes in serotonin and dopamine systems in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)*, 231: 3119-3129.

- Lopez-Arnau R, Martinez-Clemente J, Pubill D, Escubedo E, Camarasa J. (2014b) Serotonergic impairment and memory deficits in adolescent rats after binge exposure of methylone. *J Psychopharmacol*, 28: 1053-1063.
- Lopez-Arnau R, Martinez-Clemente J, Rodrigo T, Pubill D, Camarasa J, Escubedo E. (2015) Neuronal changes and oxidative stress in adolescent rats after repeated exposure to mephedrone. *Toxicol Appl Pharmacol*, 286: 27-35.
- Luthi AU, Martin SJ. (2007) The CASBAH: a searchable database of caspase substrates. *Cell Death Differ*, 14: 641-650.
- Lutiger B, Graham K, Einarson TR, Koren G. (1991) Relationship between gestational cocaine use and pregnancy outcome: a meta-analysis. *Teratology*, 44: 405-414.
- Lutz TA. (2006) Amylinergic control of food intake. *Physiol Behav*, 89: 465-471.
- Ly JD, Grubb DR, Lawen A. (2003) The mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi(m)$) in apoptosis; an update. *Apoptosis*, 8: 115-128.
- Macuchova E, Nohejlova-Deykun K, Slamberova R. (2013) Effect of methamphetamine on cognitive functions of adult female rats prenatally exposed to the same drug. *Physiol Res*, 62 Suppl 1: S89-98.
- Majdak P, Grogan EL, Gogola JV, Sorokina A, Tse S, Rhodes JS. (2016) The impact of maternal neglect on genetic hyperactivity. *Behav Brain Res*, 313: 282-292.
- Mann PE, Bridges RS. (1992) Neural and endocrine sensitivities to opioids decline as a function of multiparity in the rat. *Brain Res*, 580: 241-248.
- Mann PE, Kinsley CH, Bridges RS. (1991) Opioid receptor subtype involvement in maternal behavior in lactating rats. *Neuroendocrinology*, 53: 487-492.
- Martel MA, Wyllie DJ, Hardingham GE. (2008) In developing hippocampal neurons, NR2B-containing N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) can mediate signaling to neuronal survival and synaptic potentiation, as well as neuronal death. *Neuroscience*, 158: 334-343.
- Martin JC, Martin DC, Radow B, Sigman G. (1976) Growth, development and activity in rat offspring following maternal drug exposure. *Exp Aging Res*, 2: 235-251.

- Martin MM, Graham DL, McCarthy DM, Bhide PG, Stanwood GD. (2016) Cocaine-induced neurodevelopmental deficits and underlying mechanisms. *Birth Defects Res C Embryo Today*, 108: 147-173.
- Marusich JA, Antonazzo KR, Wiley JL, Blough BE, Partilla JS, Baumann MH. (2014) Pharmacology of novel synthetic stimulants structurally related to the "bath salts" constituent 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV). *Neuropharmacology*, 87: 206-213.
- Marusich JA, Grant KR, Blough BE, Wiley JL. (2012) Effects of synthetic cathinones contained in "bath salts" on motor behavior and a functional observational battery in mice. *Neurotoxicology*, 33: 1305-1313.
- Mayes L, Snyder PJ, Langlois E, Hunter N. (2007) Visuospatial working memory in school-aged children exposed in utero to cocaine. *Child Neuropsychol*, 13: 205-218.
- McCarthy DM, Bhide PG. (2012) Prenatal cocaine exposure decreases parvalbumin-immunoreactive neurons and GABA-to-projection neuron ratio in the medial prefrontal cortex. *Dev Neurosci*, 34: 174-183.
- McIlwain DR, Berger T, Mak TW. (2013) Caspase functions in cell death and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 5: a008656.
- McMurray MS, Zeskind PS, Meiners SM, Garber KA, Tien H, Johns JM. (2013) Effect of prenatal cocaine on early postnatal thermoregulation and ultrasonic vocalization production. *Front Psychol*, 4: 882.
- Meyer MR, Du P, Schuster F, Maurer HH. (2010) Studies on the metabolism of the alpha-pyrrolidinophenone designer drug methylenedioxy-propylamphetamine (MDPV) in rat and human urine and human liver microsomes using GC-MS and LC-high-resolution MS and its detectability in urine by GC-MS. *J Mass Spectrom*, 45: 1426-1442.
- Milkovich L, van der Berg BJ. (1977) Effects of antenatal exposure to anorectic drugs. *Am J Obstet Gynecol*, 129: 637-642.
- Minnes S, Lang A, Singer L. (2011) Prenatal tobacco, marijuana, stimulant, and opiate exposure: outcomes and practice implications. *Addict Sci Clin Pract*, 6: 57-70.

- Minnes S, Singer LT, Arendt R, Satayathum S. (2005) Effects of prenatal cocaine/polydrug use on maternal-infant feeding interactions during the first year of life. *J Dev Behav Pediatr*, 26: 194-200.
- Mishra A, Landzberg BR, Parente JT. (1995) Uterine rupture in association with alkaloidal ("crack") cocaine abuse. *Am J Obstet Gynecol*, 173: 243-244.
- Moratalla R, Khairnar A, Simola N, Granado N, Garcia-Montes JR, Porceddu PF, Tizabi Y, Costa G, Morelli M. (2015) Amphetamine-related drugs neurotoxicity in humans and in experimental animals: Main mechanisms. *Prog Neurobiol*, 155: 149-170.
- Morgan HD, Watchus JA, Milgram NW, Fleming AS. (1999) The long lasting effects of electrical stimulation of the medial preoptic area and medial amygdala on maternal behavior in female rats. *Behav Brain Res*, 99: 61-73.
- Morishige WK, Pepe GJ, Rothchild I. (1973) Serum luteinizing hormone, prolactin and progesterone levels during pregnancy in the rat. *Endocrinology*, 92: 1527-1530.
- Morris P, Binienda Z, Gillam MP, Harkey MR, Zhou C, Henderson GL, Paule MG. (1996) The effect of chronic cocaine exposure during pregnancy on maternal and infant outcomes in the rhesus monkey. *Neurotoxicol Teratol*, 18: 147-154.
- Morrow BA, Elsworth JD, Roth RH. (2001) Prenatal exposure to cocaine reduces the number and enhances reactivity of A10 dopaminergic neurons to environmental stress. *Synapse*, 41: 337-344.
- Morrow BA, Elsworth JD, Roth RH. (2002) Prenatal cocaine exposure disrupts non-spatial, short-term memory in adolescent and adult male rats. *Behav Brain Res*, 129: 217-223.
- Naseri G, Fazel A, Golalipour MJ, Haghiri H, Sadeghian H, Mojarrad M, Hosseini M, Shahrokhi Sabzevar S, Beheshti F, Ghorbani A. (2018) Exposure to mephedrone during gestation increases the risk of stillbirth and induces hippocampal neurotoxicity in mice offspring. *Neurotoxicol Teratol*, 67: 10-17.
- Nelson CJ, Meter KE, Walker CH, Ayers AA, Johns JM. (1998) A dose-response study of chronic cocaine on maternal behavior in rats. *Neurotoxicol Teratol*, 20: 657-660.

- Neuspiel DR, Hamel SC, Hochberg E, Greene J, Campbell D. (1991) Maternal cocaine use and infant behavior. *Neurotoxicol Teratol*, 13: 229-233.
- Numan M. (1986) The role of the medial preoptic area in the regulation of maternal behavior in the rat. *Ann N Y Acad Sci*, 474: 226-233.
- Numan M. (2006) Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Dev Psychobiol*, 49: 12-21.
- Numan M, Numan MJ. (1997) Projection sites of medial preoptic area and ventral bed nucleus of the stria terminalis neurons that express Fos during maternal behavior in female rats. *J Neuroendocrinol*, 9: 369-384.
- Numan M, Numan MJ, Pliakou N, Stolzenberg DS, Mullins OJ, Murphy JM, Smith CD. (2006) The effects of D1 or D2 dopamine receptor antagonism in the medial preoptic area, ventral pallidum, or nucleus accumbens on the maternal retrieval response and other aspects of maternal behavior in rats. *Behav Neurosci*, 119: 1588-1604.
- Numan M, Numan MJ, Schwarz JM, Neuner CM, Flood TF, Smith CD. (2005) Medial preoptic area interactions with the nucleus accumbens-ventral pallidum circuit and maternal behavior in rats. *Behav Brain Res*, 158: 53-68.
- Numan M, Rosenblatt JS, Komisaruk BR. (1977) Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol*, 91: 146-164.
- Numan M, Stolzenberg DS. (2008) Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats. *Front Neuroendocrinol*, 30: 46-64.
- Nutt DJ, Lingford-Hughes A, Erritzoe D, Stokes PR. (2015) The dopamine theory of addiction: 40 years of highs and lows. *Nat Rev Neurosci*, 16: 305-312.
- Odoardi S, Romolo FS, Strano-Rossi S. (2016) A snapshot on NPS in Italy: Distribution of drugs in seized materials analysed in an Italian forensic laboratory in the period 2013-2015. *Forensic Sci Int*, 265: 116-120.
- Oei JL, Kingsbury A, Dhawan A, Burns L, Feller JM, Clews S, Falconer J, Abdel-Latif ME. (2012) Amphetamines, the pregnant woman and her children: a review. *J Perinatol*, 32: 737-747.

- Olazabal DE, Pereira M, Agrati D, Ferreira A, Fleming AS, Gonzalez-Mariscal G, Levy F, Lucion AB, Morrell JI, Numan M, Uriarte N. (2013) New theoretical and experimental approaches on maternal motivation in mammals. *Neurosci Biobehav Rev*, 37: 1860-1874.
- Palamar JJ, Martins SS, Su MK, Ompad DC. (2015) Self-reported use of novel psychoactive substances in a US nationally representative survey: Prevalence, correlates, and a call for new survey methods to prevent underreporting. *Drug Alcohol Depend*, 156: 112-119.
- Palkovits M, Helfferich F, Dobolyi A, Usdin TB. (2009) Acoustic stress activates tuberoinfundibular peptide of 39 residues neurons in the rat brain. *Brain Struct Funct*, 214: 15-23.
- Panksepp J, Nelson E, Siviy S. (1994) Brain opioids and mother-infant social motivation. *Acta Paediatr Suppl*, 397: 40-46.
- Pascoli V, Terrier J, Hiver A, Luscher C. (2015) Sufficiency of Mesolimbic Dopamine Neuron Stimulation for the Progression to Addiction. *Neuron*, 88: 1054-1066.
- Passie T, Benzenhofer U. (2016) The History of MDMA as an Underground Drug in the United States, 1960-1979. *J Psychoactive Drugs*, 48: 67-75.
- Pedersen CA, Ascher JA, Monroe YL, Prange AJ, Jr. (1982) Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science*, 216: 648-650.
- Pedersen CA, Boccia ML. (2003) Oxytocin antagonism alters rat dams' oral grooming and upright posturing over pups. *Physiol Behav*, 80: 233-241.
- Pedersen CA, Caldwell JD, Walker C, Ayers G, Mason GA. (1994) Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behav Neurosci*, 108: 1163-1171.
- Peterfi A, Tarjan A, Horvath GC, Csesztregi T, Nyirady A. (2014) Changes in patterns of injecting drug use in Hungary: a shift to synthetic cathinones. *Drug Test Anal*, 6: 825-831.
- Phupong V, Darojn D. (2007) Amphetamine abuse in pregnancy: the impact on obstetric outcome. *Arch Gynecol Obstet*, 276: 167-170.

- Piccirillo M, Alpert JE, Cohen DJ, Shaywitz BA. (1980) Amphetamine and maternal behavior: dose response relationships. *Psychopharmacology (Berl)*, 70: 195-199.
- Pichini S, Rotolo MC, Garcia J, Girona N, Leal L, Garcia-Algar O, Pacifici R. (2014) Neonatal withdrawal syndrome after chronic maternal consumption of 4-methylethcathinone. *Forensic Sci Int*, 245: e33-35.
- Plankey MW, Ostrow DG, Stall R, Cox C, Li X, Peck JA, Jacobson LP. (2007) The relationship between methamphetamine and popper use and risk of HIV seroconversion in the multicenter AIDS cohort study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 45: 85-92.
- Plessinger MA. (1998) Prenatal exposure to amphetamines. Risks and adverse outcomes in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 25: 119-138.
- Poeggeler B, Rassoulpour A, Guidetti P, Wu HQ, Schwarcz R. (1998) Dopaminergic control of kynurenate levels and N-methyl-D-aspartate toxicity in the developing rat striatum. *Dev Neurosci*, 20: 146-153.
- Poeggeler B, Rassoulpour A, Wu HQ, Guidetti P, Roberts RC, Schwarcz R. (2007) Dopamine receptor activation reveals a novel, kynurenate-sensitive component of striatal N-methyl-D-aspartate neurotoxicity. *Neuroscience*, 148: 188-197.
- Pometlova M, Hrubá L, Slamberova R, Rokyta R. (2008) Cross-fostering effect on postnatal development of rat pups exposed to methamphetamine during gestation and preweaning periods. *Int J Dev Neurosci*, 27: 149-155.
- Quinones-Jenab V, Batel P, Schlussman SD, Ho A, Kreek MJ. (1998) Cocaine impairs maternal nest building in pregnant rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 58: 1009-1013.
- Randrup A, Munkvad I. (1967) Stereotyped activities produced by amphetamine in several animal species and man. *Psychopharmacologia*, 11: 300-310.
- Regan L, Mitchelson M, Macdonald C. (2010) Mephedrone toxicity in a Scottish emergency department. *Emerg Med J*, 28: 1055-1058.
- Reichel CM, Schwendt M, McGinty JF, Olive MF, See RE. (2010) Loss of object recognition memory produced by extended access to methamphetamine self-administration is reversed by positive allosteric modulation of metabotropic glutamate receptor 5. *Neuropsychopharmacology*, 36: 782-792.

- Ribeiro AC, Musatov S, Shteyler A, Simanduyev S, Arrieta-Cruz I, Ogawa S, Pfaff DW. (2012) siRNA silencing of estrogen receptor-alpha expression specifically in medial preoptic area neurons abolishes maternal care in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109: 16324-16329.
- Richard JM, Castro DC, Difeliceantonio AG, Robinson MJ, Berridge KC. (2012) Mapping brain circuits of reward and motivation: in the footsteps of Ann Kelley. *Neurosci Biobehav Rev*, 37: 1919-1931.
- Rickli A, Hoener MC, Liechti ME. (2015) Monoamine transporter and receptor interaction profiles of novel psychoactive substances: para-halogenated amphetamines and pyrovalerone cathinones. *Eur Neuropsychopharmacol*, 25: 365-376.
- Rilling JK. (2013) The neural and hormonal bases of human parental care. *Neuropsychologia*, 51: 731-747.
- Rilling JK, Young LJ. (2014) The biology of mammalian parenting and its effect on offspring social development. *Science*, 345: 771-776.
- Robbins TW, Everitt BJ. (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol*, 6: 228-236.
- Romanek K, Stenzel J, Schmoll S, Schrettl V, Geith S, Eyer F, Rabe C. (2017) Synthetic cathinones in Southern Germany - characteristics of users, substance-patterns, co-ingestions, and complications. *Clin Toxicol (Phila)*, 55: 573-578.
- Romano AG, Harvey JA. (1998) Prenatal cocaine exposure: long-term deficits in learning and motor performance. *Ann N Y Acad Sci*, 846: 89-108.
- Root DH, Melendez RI, Zaborszky L, Napier TC. (2015) The ventral pallidum: Subregion-specific functional anatomy and roles in motivated behaviors. *Prog Neurobiol*, 130: 29-70.
- Rosas-Hernandez H, Cuevas E, Lantz SM, Rice KC, Gannon BM, Fantegrossi WE, Gonzalez C, Paule MG, Ali SF. (2016) Methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxypropylpyrovalerone (MDPV) induce differential cytotoxic effects in bovine brain microvessel endothelial cells. *Neurosci Lett*, 629: 125-130.

- Rose EJ, Salmeron BJ, Ross TJ, Waltz J, Schweitzer JB, Stein EA. (2016) Dissociable Effects of Cocaine Dependence on Reward Processes: The Role of Acute Cocaine and Craving. *Neuropsychopharmacology*, 42: 736-747.
- Ross EA, Reisfield GM, Watson MC, Chronister CW, Goldberger BA. (2012) Psychoactive "bath salts" intoxication with methylenedioxypropylamphetamine. *Am J Med*, 125: 854-858.
- Rubin BS, Bridges RS. (1984) Disruption of ongoing maternal responsiveness in rats by central administration of morphine sulfate. *Brain Res*, 307: 91-97.
- Rubio-Araiz A, Perez-Hernandez M, Urrutia A, Porcu F, Borcel E, Gutierrez-Lopez MD, O'Shea E, Colado MI. (2014) 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) disrupts blood-brain barrier integrity through a mechanism involving P2X7 receptors. *Int J Neuropsychopharmacol*, 17: 1243-1255.
- Russo R, Marks N, Morris K, King H, Gelvin A, Rooney R. (2012) Life-threatening necrotizing fasciitis due to 'bath salts' injection. *Orthopedics*, 35: e124-127.
- Salas-Ramirez KY, Frankfurt M, Alexander A, Luine VN, Friedman E. (2010) Prenatal cocaine exposure increases anxiety, impairs cognitive function and increases dendritic spine density in adult rats: influence of sex. *Neuroscience*, 169: 1287-1295.
- Salgado S, Kaplitt MG. (2015) The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg*, 93: 75-93.
- Salvesen GS. (2002) Caspases: opening the boxes and interpreting the arrows. *Cell Death Differ*, 9: 3-5.
- Sande M. (2015) Characteristics of the use of 3-MMC and other new psychoactive drugs in Slovenia, and the perceived problems experienced by users. *Int J Drug Policy*, 27: 65-73.
- Sanz-Clemente A, Nicoll RA, Roche KW. (2012) Diversity in NMDA receptor composition: many regulators, many consequences. *Neuroscientist*, 19: 62-75.
- Sasaki A, Constantino A, Pan P, Kupferschmidt DA, McGowan PO, Erb S. (2014) Cocaine exposure prior to pregnancy alters the psychomotor response to cocaine and

transcriptional regulation of the dopamine D1 receptor in adult male offspring. *Behav Brain Res*, 265: 163-170.

Savage J, Brodsky NL, Malmud E, Giannetta JM, Hurt H. (2005) Attentional functioning and impulse control in cocaine-exposed and control children at age ten years. *J Dev Behav Pediatr*, 26: 42-47.

Schifano F, Albanese A, Fergus S, Stair JL, Deluca P, Corazza O, Davey Z, Corkery J, Siemann H, Scherbaum N, Farre M, Torrens M, Demetrovics Z, Ghodse AH. (2010) Mephedrone (4-methylmethcathinone; 'meow meow'): chemical, pharmacological and clinical issues. *Psychopharmacology (Berl)*, 214: 593-602.

Schutova B, Hrubá L, Pometlova M, Deykun K, Slamberova R. (2008) Cognitive functions and drug sensitivity in adult male rats prenatally exposed to methamphetamine. *Physiol Res*, 58: 741-750.

Scofield MD, Trantham-Davidson H, Schwendt M, Leong KC, Peters J, See RE, Reichel CM. (2015) Failure to Recognize Novelty after Extended Methamphetamine Self-Administration Results from Loss of Long-Term Depression in the Perirhinal Cortex. *Neuropsychopharmacology*, 40: 2526-2535.

Sevcikova M, Hrebickova I, Macuchova E, Slamberova R. (2017) The influence of methamphetamine on maternal behavior and development of the pups during the neonatal period. *Int J Dev Neurosci*, 59: 37-46.

Sewalia K, Watterson LR, Hryciw A, Belloc A, Ortiz JB, Olive MF. (2017) Neurocognitive dysfunction following repeated binge-like self-administration of the synthetic cathinone 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV). *Neuropharmacology*, 134: 36-45.

Shabat-Simon M, Levy D, Amir A, Rehavi M, Zangen A. (2008) Dissociation between rewarding and psychomotor effects of opiates: differential roles for glutamate receptors within anterior and posterior portions of the ventral tegmental area. *J Neurosci*, 28: 8406-8416.

Sheinkopf SJ, Lagasse LL, Lester BM, Liu J, Seifer R, Bauer CR, Shankaran S, Bada H, Higgins R, Das A. (2007) Prenatal cocaine exposure: cardiorespiratory function and resilience. *Ann N Y Acad Sci*, 1094: 354-358.

Shekar A, Aguilar JI, Galli G, Cozzi NV, Brandt SD, Ruoho AE, Baumann MH, Matthies HJG, Galli A. (2017) Atypical dopamine efflux caused by 3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) via the human dopamine transporter. *J Chem Neuroanat*, 83-84: 69-74.

Siciliano CA, Calipari ES, Ferris MJ, Jones SR. (2014a) Adaptations of presynaptic dopamine terminals induced by psychostimulant self-administration. *ACS Chem Neurosci*, 6: 27-36.

Siciliano CA, Calipari ES, Ferris MJ, Jones SR. (2014b) Biphasic mechanisms of amphetamine action at the dopamine terminal. *J Neurosci*, 34: 5575-5582.

Simmler LD, Buser TA, Donzelli M, Schramm Y, Dieu LH, Huwyler J, Chaboz S, Hoener MC, Liechti ME. (2012) Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. *Br J Pharmacol*, 168: 458-470.

Simmler LD, Wandeler R, Liechti ME. (2013) Bupropion, methylphenidate, and 3,4-methylenedioxypropylamphetamine antagonize methamphetamine-induced efflux of dopamine according to their potencies as dopamine uptake inhibitors: implications for the treatment of methamphetamine dependence. *BMC Res Notes*, 6: 220.

Sinclair D, Cesare J, McMullen M, Carlson GC, Hahn CG, Borgmann-Winter KE. (2016) Effects of sex and DTNBP1 (dysbindin) null gene mutation on the developmental GluN2B-GluN2A switch in the mouse cortex and hippocampus. *J Neurodev Disord*, 8: 14.

Singer LT, Arendt R, Minnes S, Farkas K, Salvator A, Kirchner HL, Kliegman R. (2002) Cognitive and motor outcomes of cocaine-exposed infants. *Jama*, 287: 1952-1960.

Singer LT, Moore DG, Fulton S, Goodwin J, Turner JJ, Min MO, Parrott AC. (2012) Neurobehavioral outcomes of infants exposed to MDMA (Ecstasy) and other recreational drugs during pregnancy. *Neurotoxicol Teratol*, 34: 303-310.

Singer LT, Moore DG, Min MO, Goodwin J, Turner JJ, Fulton S, Parrott AC. (2016) Motor delays in MDMA (ecstasy) exposed infants persist to 2 years. *Neurotoxicol Teratol*, 54: 22-28.

Sivagnanam K, Chaudari D, Lopez P, Sutherland ME, Ramu VK. (2013) "Bath salts" induced severe reversible cardiomyopathy. *Am J Case Rep*, 14: 288-291.

Skelton MR, Williams MT, Vorhees CV. (2006) Treatment with MDMA from P11-20 disrupts spatial learning and path integration learning in adolescent rats but only spatial learning in older rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 189: 307-318.

Skelton MR, Williams MT, Vorhees CV. (2008) Developmental effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine: a review. *Behav Pharmacol*, 19: 91-111.

Slamberova R. (2012) Drugs in pregnancy: the effects on mother and her progeny. *Physiol Res*, 61 Suppl 1: S123-135.

Slamberova R, Charousova P, Pometlova M. (2005a) Maternal behavior is impaired by methamphetamine administered during pre-mating, gestation and lactation. *Reprod Toxicol*, 20: 103-110.

Slamberova R, Charousova P, Pometlova M. (2005b) Methamphetamine administration during gestation impairs maternal behavior. *Dev Psychobiol*, 46: 57-65.

Slamberova R, Pometlova M, Charousova P. (2005c) Postnatal development of rat pups is altered by prenatal methamphetamine exposure. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 30: 82-88.

Slamberova R, Pometlova M, Syllabova L, Mancuskova M. (2005d) Learning in the Place navigation task, not the New-learning task, is altered by prenatal methamphetamine exposure. *Brain Res Dev Brain Res*, 157: 217-219.

Snigdha S, Smith ED, Prieto GA, Cotman CW. (2012) Caspase-3 activation as a bifurcation point between plasticity and cell death. *Neurosci Bull*, 28: 14-24.

Son GH, Chung S, Geum D, Kang SS, Choi WS, Kim K, Choi S. (2006) Hyperactivity and alteration of the midbrain dopaminergic system in maternally stressed male mice offspring. *Biochem Biophys Res Commun*, 352: 823-829.

Sood BG, Nordstrom Bailey B, Covington C, Sokol RJ, Ager J, Janisse J, Hannigan JH, Delaney-Black V. (2005) Gender and alcohol moderate caregiver reported child behavior after prenatal cocaine. *Neurotoxicol Teratol*, 27: 191-201.

Spear LP, Kirstein CL, Bell J, Yoottanasumpun V, Greenbaum R, O'Shea J, Hoffmann H, Spear NE. (1989) Effects of prenatal cocaine exposure on behavior during the early postnatal period. *Neurotoxicol Teratol*, 11: 57-63.

- Spiller HA, Ryan ML, Weston RG, Jansen J. (2011) Clinical experience with and analytical confirmation of "bath salts" and "legal highs" (synthetic cathinones) in the United States. *Clin Toxicol (Phila)*, 49: 499-505.
- St Omer VE, Ali SF, Holson RR, Duhart HM, Scalzo FM, Slikker W, Jr. (1991) Behavioral and neurochemical effects of prenatal methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol*, 13: 13-20.
- Stack EC, Numan M. (2000) The temporal course of expression of c-Fos and Fos B within the medial preoptic area and other brain regions of postpartum female rats during prolonged mother--young interactions. *Behav Neurosci*, 114: 609-622.
- Stern JM, Johnson SK. (1989) Perioral somatosensory determinants of nursing behavior in Norway rats (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol*, 103: 269-280.
- Stolzenberg DS, McKenna JB, Keough S, Hancock R, Numan MJ, Numan M. (2007) Dopamine D1 receptor stimulation of the nucleus accumbens or the medial preoptic area promotes the onset of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. *Behav Neurosci*, 121: 907-919.
- Strange LG, Kochelek K, Keasling R, Brown SD, Pond BB. (2017) The pharmacokinetic profile of synthetic cathinones in a pregnancy model. *Neurotoxicol Teratol*, 63: 9-13.
- Stroebel D, Casado M, Paoletti P. (2018) Triheteromeric NMDA receptors: from structure to synaptic physiology. *Curr Opin Physiol*, 2: 1-12.
- Sussman S, Sussman AN. Considering the definition of addiction. In: (szerk.), *Int J Environ Res Public Health*. Switzerland, 2011: 4025-4038.
- Szabo ER, Cservenak M, Dobolyi A. (2011) Amylin is a novel neuropeptide with potential maternal functions in the rat. *Faseb j*, 26: 272-281.
- Tait SW, Green DR. (2010) Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 11: 621-632.
- Tarjan A, Dudas M, Wiessing L, Horvath G, Rusvai E, Tresó B, Csohan A. (2016) HCV prevalence and risk behaviours among injectors of new psychoactive substances in a risk environment in Hungary-An expanding public health burden. *Int J Drug Policy*, 41: 1-7.

- Tau GZ, Peterson BS. (2009) Normal development of brain circuits. *Neuropsychopharmacology*, 35: 147-168.
- Thomas DM, Dowgiert J, Geddes TJ, Francescutti-Verbeem D, Liu X, Kuhn DM. (2004) Microglial activation is a pharmacologically specific marker for the neurotoxic amphetamines. *Neurosci Lett*, 367: 349-354.
- Thornberry NA. (1998) Caspases: key mediators of apoptosis. *Chem Biol*, 5: R97-103.
- Thornberry NA, Lazebnik Y. (1998) Caspases: enemies within. *Science*, 281: 1312-1316.
- Tiwari HS, Misra UK, Kalita J, Mishra A, Shukla S. (2016) Oxidative stress and glutamate excitotoxicity contribute to apoptosis in cerebral venous sinus thrombosis. *Neurochem Int*, 100: 91-96.
- Tomiyama K, Funada M. (2013) Cytotoxicity of synthetic cannabinoids on primary neuronal cells of the forebrain: the involvement of cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell death. *Toxicol Appl Pharmacol*, 274: 17-23.
- Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG. (2003) Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci*, 4: 13-25.
- Tulloch IK, Afanador L, Zhu J, Angulo JA. (2011) Methamphetamine induces striatal cell death followed by the generation of new cells and a second round of cell death in mice. *Curr Neuropharmacol*, 9: 79-83.
- Ukeje I, Bendersky M, Lewis M. (2001) Mother-infant interaction at 12 months in prenatally cocaine-exposed children. *Am J Drug Alcohol Abuse*, 27: 203-224.
- Valente MJ, Amaral C, Correia-da-Silva G, Duarte JA, Bastos ML, Carvalho F, Guedes de Pinho P, Carvalho M. (2017a) Methylone and MDPV activate autophagy in human dopaminergic SH-SY5Y cells: a new insight into the context of beta-keto amphetamines-related neurotoxicity. *Arch Toxicol*, 91: 3663-3676.
- Valente MJ, Bastos ML, Fernandes E, Carvalho F, Guedes de Pinho P, Carvalho M. (2017b) Neurotoxicity of beta-Keto Amphetamines: Deathly Mechanisms Elicited by Methylone and MDPV in Human Dopaminergic SH-SY5Y Cells. *ACS Chem Neurosci*, 8: 850-859.

Valsalan R, Varghese B, Soman D, Buckmaster J, Yew S, Cooper D. (2017) Multi-organ dysfunction due to bath salts: are we aware of this entity? *Intern Med J*, 47: 109-111.

van den Anker JN, Cohen-Overbeek TE, Wladimiroff JW, Sauer PJ. Prenatal diagnosis of limb-reduction defects due to maternal cocaine use. In: (szerk.), *Lancet*. England, 1991: 1332.

van Gelder MM, Reefhuis J, Caton AR, Werler MM, Druschel CM, Roeleveld N. (2008) Maternal periconceptional illicit drug use and the risk of congenital malformations. *Epidemiology*, 20: 60-66.

Van Hout MC, Benschop A, Bujalski M, Dabrowska K, Demetrovics Z, Felvinczi K, Hearne E, Henriques S, Kalo Z, Kamphausen G, Korf D, Silva JP, Wieczorek L, Wersé B. (2018) Health and Social Problems Associated with Recent Novel Psychoactive Substance (NPS) Use Amongst Marginalised, Nightlife and Online Users in Six European Countries. *Int J Ment Health Addict*, 16: 480-495.

Vernotica EM, Rosenblatt JS, Morrell JI. (1999) Microinfusion of cocaine into the medial preoptic area or nucleus accumbens transiently impairs maternal behavior in the rat. *Behav Neurosci*, 113: 377-390.

Vislobokov AI, Mantsev VV, Kuzmin AV. (1993) Cocaine, amphetamine and cathinone, but not nomifensine and pargyline increase calcium inward current in internally perfused neurons. *Life Sci*, 52: P1261-265.

Viteri OA, Soto EE, Bahado-Singh RO, Christensen CW, Chauhan SP, Sibai BM. (2014) Fetal anomalies and long-term effects associated with substance abuse in pregnancy: a literature review. *Am J Perinatol*, 32: 405-416.

Vizi ES, Kisfali M, Lorincz T. (2012) Role of nonsynaptic GluN2B-containing NMDA receptors in excitotoxicity: evidence that fluoxetine selectively inhibits these receptors and may have neuroprotective effects. *Brain Res Bull*, 93: 32-38.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Hitzemann R, Chen AD, Dewey SL, Pappas N. (1997) Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature*, 386: 830-833.

- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Tomasi D, Telang F, Baler R. (2010) Addiction: decreased reward sensitivity and increased expectation sensitivity conspire to overwhelm the brain's control circuit. *Bioessays*, 32: 748-755.
- Vorhees CV, Reed TM, Skelton MR, Williams MT. (2004) Exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on postnatal days 11-20 induces reference but not working memory deficits in the Morris water maze in rats: implications of prior learning. *Int J Dev Neurosci*, 22: 247-259.
- Vorhees CV, Schaefer TL, Williams MT. (2007) Developmental effects of +/-3,4-methylenedioxymethamphetamine on spatial versus path integration learning: effects of dose distribution. *Synapse*, 61: 488-499.
- Wahlstrom D, White T, Luciana M. (2009) Neurobehavioral evidence for changes in dopamine system activity during adolescence. *Neurosci Biobehav Rev*, 34: 631-648.
- Wajant H. (2002) The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science*, 296: 1635-1636.
- Watterson LR, Kufahl PR, Nemirovsky NE, Sewalia K, Grabenauer M, Thomas BF, Marusich JA, Wegner S, Olive MF. (2012) Potent rewarding and reinforcing effects of the synthetic cathinone 3,4-methylenedioxypyrovalerone (MDPV). *Addict Biol*, 19: 165-174.
- Watterson LR, Watterson E, Olive MF. (2013) Abuse liability of novel 'legal high' designer stimulants: evidence from animal models. *Behav Pharmacol*, 24: 341-355.
- Webster WS, Brown-Woodman PD. (1990) Cocaine as a cause of congenital malformations of vascular origin: experimental evidence in the rat. *Teratology*, 41: 689-697.
- White CM. (2016) Mephedrone and 3,4-Methylenedioxypyrovalerone (MDPV): Synthetic Cathinones With Serious Health Implications. *J Clin Pharmacol*, 56: 1319-1325.
- Williams SK, Johns JM. (2013) Prenatal and gestational cocaine exposure: Effects on the oxytocin system and social behavior with implications for addiction. *Pharmacol Biochem Behav*, 119: 10-21.

- Willuhn I, Burgeno LM, Groblewski PA, Phillips PE. (2014) Excessive cocaine use results from decreased phasic dopamine signaling in the striatum. *Nat Neurosci*, 17: 704-709.
- Winstock A, Mitcheson L, Ramsey J, Davies S, Puchnarewicz M, Marsden J. (2011) Mephedrone: use, subjective effects and health risks. *Addiction*, 106: 1991-1996.
- Wohlfarth A, Weinmann W. (2010) Bioanalysis of new designer drugs. *Bioanalysis*, 2: 965-979.
- Wojcieszak J, Andrzejczak D, Woldan-Tambor A, Zawilska JB. (2016) Cytotoxic Activity of Pyrovalerone Derivatives, an Emerging Group of Psychostimulant Designer Cathinones. *Neurotox Res*, 30: 239-250.
- Wood DM, Greene SL, Dargan PI. (2010) Clinical pattern of toxicity associated with the novel synthetic cathinone mephedrone. *Emerg Med J*, 28: 280-282.
- Wood RD, Bannoura MD, Johanson IB. (1994) Prenatal cocaine exposure: effects on play behavior in the juvenile rat. *Neurotoxicol Teratol*, 16: 139-144.
- Wu CC, Bratton SB. (2012) Regulation of the intrinsic apoptosis pathway by reactive oxygen species. *Antioxid Redox Signal*, 19: 546-558.
- Wu H, Che X, Zheng Q, Wu A, Pan K, Shao A, Wu Q, Zhang J, Hong Y. (2014) Caspases: a molecular switch node in the crosstalk between autophagy and apoptosis. *Int J Biol Sci*, 10: 1072-1083.
- Xu J, Kirigiti MA, Grove KL, Smith MS. (2009) Regulation of food intake and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone during lactation: role of insulin and leptin. *Endocrinology*, 150: 4231-4240.
- Yan QS. (2002) Reduced serotonin release and serotonin uptake sites in the rat nucleus accumbens and striatum after prenatal cocaine exposure. *Brain Res*, 929: 59-69.
- Yeo JA, Keverne EB. (1986) The importance of vaginal-cervical stimulation for maternal behaviour in the rat. *Physiol Behav*, 37: 23-26.
- Yu GZ, Kaba H, Okutani F, Takahashi S, Higuchi T, Seto K. (1996) The action of oxytocin originating in the hypothalamic paraventricular nucleus on mitral and granule cells in the rat main olfactory bulb. *Neuroscience*, 72: 1073-1082.

Zaami S, Giorgetti R, Pichini S, Pantano F, Marinelli E, Busardo FP. (2018) Synthetic cathinones related fatalities: an update. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22: 268-274.

Zhu JP, Xu W, Angulo JA. (2006) Methamphetamine-induced cell death: selective vulnerability in neuronal subpopulations of the striatum in mice. *Neuroscience*, 140: 607-622.

Zsedényi CK, Zachar G, Csillag A, Ádám Á. (2014) Effect of synthetic cathinones: mephedrone, butylone and 3,4 methylene-dioxypyrovalerone (MDPV) on social separation induced distress vocalization, vigilance and postural control of young domestic chicks. *Neurosci Lett*, 580: 88-93.

Zuba D, Byrska B. (2012) Prevalence and co-existence of active components of 'legal highs'. *Drug Test Anal*, 5: 420-429.

10. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

10.1. A doktori értekezés alapjául szolgáló publikációk:

Ádám Á, **Gerecsei LI**, Lepesi N, Csillag A. (2014) Apoptotic effects of the 'designer drug' methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) on the neonatal mouse brain. *Neurotoxicology*, 44: 231-236. **IF=3,379**

Gerecsei LI, Csillag A, Zachar G, Gévai L, Simon L, Dobolyi Á, Ádám Á. (2018) Gestational Exposure to the Synthetic Cathinone Methylenedioxypropylamphetamine Results in Reduced Maternal Care and Behavioral Alterations in Mouse Pups. *Front Neurosci*, 12: 27. **IF=3,566**

10.2. Egyéb publikációk:

Gerecsei LI, Ádám Á. (2015) A dizájner drog metiléndioxi-pirovaleron hatása a fejlődő idegrendszerre kísérletes állatmodellben. *Orv Hetil*, 156: 1221-1225. **IF=0,291**

Gerecsei LI, Balázs T, Echevarría D, Ádám Á, Zachar G, Csillag A. (2019) Selective neuronal death following exposure to methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) is accompanied by an inhibition of NMDA receptor NR2B subunit expression. *Acta Neurobiol Exp*, 79:19-27. (közlés alatt) **IF=1,500**

11. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elősorban témavezetőmnek, Dr. Ádám Ágotának szeretném megköszönni a rengeteg támogatást, segítséget, biztatást és útmutatást, ami nélkül ez a dolgozat sohasem jöhetett volna létre. Hivatástudata, tudomány iránti feltétlen szeretete mindenkor példa marad számomra.

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Csillag Andrásnak, aki a tudós ember két legnagyobb erényére, a kíváncsiságra és a türelemre tanított. Ötletei és örök optimista hozzáállása a legnehezebb időszakok átveszelésében nyújtottak segítséget.

Hálás vagyok az Összehasonlító Neurohisztológiai és Neurocitokémiai Laboratórium minden volt és jelenlegi munkatársának, különösen Dr. Zachar Gergelynek; korábbi tudományos diákkörös társaimnak, Lepesi Nikolettnek és Horváth Krisztinának; az asszisztenciáért pedig Nyámándi Piroskának és Deák Szilviának. Nekik köszönhető az a szakmailag és emberileg is kiváló munkakörnyezet, amiben a dolgozó hétköznapiak teltek.

Köszönöm a Neuromorfológiai Laboratórium munkatársainak, főként Dr. Dobolyi Árpádnak és Hanák Nikolettnek az *in situ* hibridizációs kísérletben nyújtott nélkülözhetetlen segítséget.

Köszönöm a Szenzomotoros Adaptációs és Vesztibuláris Laboratórium munkatársainak a stabilográfiás kísérlet tervezésében, kivitelezésében és értékelésében nyújtott segítségüket.

Köszönöm továbbá Dr. Hanics János munkáját, aki a dolgozat házi bírálatát elvállalta, és így azt számos értékes és fontos észrevétellel segítette jobbá tenni.

Végül pedig bármennyi erőfeszítést is kíván az egyén részéről egy doktori értekezés elkészítése, mindez nem jöhet létre stabil, szeretetteljes családi háttér nélkül. Végtelenül hálás vagyok Párom, Édesanyám és Testvérem türelméért, megértéséért és azért, hogy mindig tudták mire van szükségem: ha alkotói magányra és csöndre, akkor azt, ha bármilyen apróságra, ami eltereli figyelmemet a mindennapi gondokról, akkor azt biztosították számomra.

Munkámat és dolgozatomat Édesapám és Nagymamám emlékének ajánlom!