

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismismů



Jitka Vyvadilová

Fyziologické účinky amfetaminů a molekulární mechanismy jejich působení

Physiological effects of amphetamines and molecular mechanisms of their action

Bakalářská práce

Supervisor: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha 2016

Prohlášení:

Prohláuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Místo a datum: . . .

. . .

Jitka Vyvadilová

Pod kování:

V první řadě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Novotnému, DSc. za cenné rady a připomínky při vypracování této bakalářské práce. Dále děkuji své rodině a svým nejbližším za veškerou podporu.

Abstrakt

Amfetaminy jsou psychostimulanty centrální nervové soustavy, které vyvolávají pocit zvýšené energie, blažený pocit a euforii. Jejich uflívání má řadu fyzických a psychických účinků, jako jsou nevolnost, zvýšený krevní tlak a tepová frekvence, zvracení, křečivost, vzrušení a bdlost, hyperaktivita a mnoho dalších. Amfetaminy vyvolávají své účinky působením na monoaminový transmisní systém v určitých oblastech mozku, dlefité jsou zejména ventrální tegmentální oblast a nucleus accumbens. Amfetaminy zde mohou ovlivňovat transportéry monoaminů lokalizované v plazmatické membráně, vezikulární monoaminové transportéry a různé receptory. Působení amfetaminů má i své praktické využití například u některých poruch, jako například porucha pozornosti s hyperaktivitou, ale chronická nadměrná aktivace toho systému a spouštění signálních kaskád v neuronech může vyvolat celou řadu změn na buněčné a molekulární úrovni, které dále jsou podkladem vzniku závislosti na těchto drogách. To má na uflivatele těchto látek spoustu dalších zdravotních a sociálních negativních dopadů.

Klíčová slova:

amfetamin, fyziologické účinky, monoaminergní systém, závislost

Abstract

Amphetamines are psychostimulants acting on the central nervous system, which produce a feeling of increased energy, euphoria and blissful feeling. The use of these drugs has many physiological effects such as nausea, increased blood pressure and heart rate, vomiting, abdominal cramps, arousal and alertness, hyperactivity and many others. Amphetamines produce their effects by acting on the monoamine transmission system in certain areas of the brain, especially in the ventral tegmental area and the nucleus accumbens. Amphetamines may affect monoamine transporters localized in the plasma membrane, vesicular monoamine transporters and various receptors. Effects of amphetamines also have practical use in the treatment of certain disorders such as attention deficit hyperactivity disorder, but chronic overactivation of the system and triggering signaling cascades in neurons may induce a number of changes at the cellular and molecular levels, that underlie the development of a state of addiction on these drugs. This has a lot of other health and social negative impacts on the drug users.

Keywords:

amphetamine, physiological effects, monoaminergic system, addiction

Seznam poufítých zkratek:

AC	adenylátcykláza (adenylate cyclase)
AChR	acetylcholinový receptor (acetylcholine receptor)
ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou (attention deficit hyperactivity disorder)
AMPA	alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxaloza
AMPH	amfetamin (amphetamine)
AP-1	aktivátorový protein 1
CaMKII	Ca ²⁺ /kalmodulindependentní kináza II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II)
CaMKIV	Ca ²⁺ /kalmodulindependentní kináza IV
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CART	kokainem a amfetaminem regulovaný transkript (cocaine- and amphetamine-regulated transcript)
CBP	CREB vazebný protein (CREB binding protein)
CFTR	(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)
CKD5	cyklindependentní kináza 5 (cyclic-dependent kinase 5)
CK2	kaseinová kináza 2 (casein kinase 2)
CNS	centrální nervový systém (central nervous system)
CRE	cAMP-responsivní element
CREB	vazebný protein CRE (cAMP-response element binding protein)
DA	dopamin
DAT	dopaminový transportér
<i>d</i> -AMPH	dextroamfetamin (dextroamphetamine)
EAAR3	excitací aminokyselinový transportér 3 (excitatory amino acid transporter 3)
IEGs	asné geny (immediate-early genes)
GABA	kyselina gama-aminomáselná (gammaaminobutyric acid)
HDAC1	histondeacetyláza 1

K _{ir} 3	dovnit usm r ující draslíkový kanál typu 3 (inwardly rectifying potassium channel 3)
KMT1A	lyzinová metyltransferáza 1A
<i>l</i> -AMPH	levoamfetamin (levoamphetamine)
MAO	monoaminoxidáza
MAPK	mitogenem aktivovaná proteinkináza
NAc	nucleus accumbens
NE	norepinefrin
NET	norepinefrinový transportér
NF- B	nukleární faktor kappa B
NMDAR1	NMDA receptor typu 1
OCT3	transportér organických kationt typu 3 (organic cation transporter3)
PFC	prefrontální kortex (prefrontal cortex)
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
PKA	proteinkináza A
PKC	proteinkináza C
PTB1	protein typu 1 vázající polypyrimidinový úsek (polypyrimidine tract binding protein 1)
SER	serotonin
SERT	serotoninový transportér
TAAR1	receptor stopových amin 1 (trace amine-associated receptor 1)
VMAT1	vezikulární monoaminový transportér 1
VMAT2	vezikulární monoaminový transportér 2
VTA	ventrální tegmentální oblast (ventral tegmental area)

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Stručná historie amfetaminu	2
3. Základní charakteristika amfetaminu	2
4. Použití amfetaminu	4
4.1. Lékařské použití.....	4
4.2. Rekreační užívání a zlepšení výkonu	4
5. Vedlejší účinky amfetaminu	4
5.1. Vedlejší fyzické účinky	4
5.2. Vedlejší psychické účinky	4
5.3. Předávkování	5
6. Farmakologie amfetaminu.....	5
6.1. Farmakokinetika amfetaminu	5
6.2. Farmakodynamika amfetaminu.....	6
6.2.1. Monoaminový systém.....	6
6.2.2. Receptor stopových aminů 1 (TAAR1)	8
6.2.3. Amfetaminy a modulace monoaminového systému	8
7. Amfetamin a závislost.....	12
7.1. Závislost na molekulární úrovni.....	13
7.1.1. FosB a jeho úloha v závislosti	13
7.1.2. CREB a jeho úloha v závislosti	15
7.1.3. NF- κ B a jeho úloha v závislosti	18
7.2. Abstinence	18
7.3. Léčba závislosti.....	18
8. Závěr	19
9. Seznam použité literatury	20

1. Úvod

Amfetamin je látka známá lidem více než sto let. Za tu dobu našla pro své vlastnosti praktické uplatnění ve farmaceutickém průmyslu (léčba poruchy pozornosti s hyperaktivitou a narkolepsie), ale zároveň se stala předmětem zneužívání a černého trhu. Závislost, kterou u uživatelů vyvolává, a s ní spojené zdravotní a sociální komplikace, jsou jedním z mnoha problémů svého mládeže.

Amfetaminy jsou stimulanty, které zvyšují krevní tlak a tepovou frekvenci, vyvolávají pocity zvýšené energie a druznosti. Potlačují také chuť k jídlu, únavu a vedou k nespavosti. Stimulanty svým působením zvyšují aktivitu neurotransmiterů v určitých oblastech mozku. Jejich chronické užívání vede k neurochemickým a neuroanatomickým změnám. Jimi vyvolaná závislost a zvýšená tolerance mají za následek problémy s pamětí, rozhodováním a verbálním uvažováním.

Amfetaminy jsou nejčastěji užívanými nezákonnými drogami v Evropě. Tato skupina látek zahrnuje kromě amfetaminu i další nelegálně užívané drogy metamfetamin a extázi, které mají halucinogenní účinky. V mnoha zemích jsou po marihuane druhou nejčastěji užívanou drogou a významným problémem lidí potěbuje léčba závislosti. V České republice je hojně užíván zejména metamfetamin. Celkový odhad celosvětové roční výroby amfetaminu a metamfetaminu činí 230 až 640 tun a výroba je soustředěna do střední Evropy, kde bylo v roce 2007 81 % z celkového množství nahlášených tajných laboratorně specializováno na amfetaminy. Vyrábí se ale i v jiných oblastech světa, zejména v Severní Americe. Prekurzory pro výrobu těchto sloučenin se řadí mezi přísně kontrolované chemické látky. Nelegálně je amfetamin prodáván ve formě prášku nebo značených tabletek. Na které státy EU hlásí poměrně velkou míru uživatelů amfetaminů z celkové populace. Odhaduje se, že 3,5 % všech dospělých Evropanů alespoň jednou v životě užívalo amfetaminy. Užívání těchto drog je v současné době spojeno s nočními kluby a tanečními akcemi a v mladší generaci spolu se spojením s určitým prostředím jsou hlášené vyšší úrovně užívání. Užívání amfetaminů je úzce spojeno s užíváním dalších návykových látek včetně alkoholu. Injekční aplikace amfetaminu nesou riziko přenosu virových chorob (HIV, hepatitidy), ale případy úmrtí spojených s amfetaminy jsou velmi vzácné (Stav drogové problematiky v Evropě [I]; European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction [II]).

Tato práce je zaměřena především na amfetamin, který je typickým zástupcem této skupiny stimulantů, na jeho fyziologické účinky, popis mechanismu, kterým vyvolává změny v neurotransmisii a závislost.

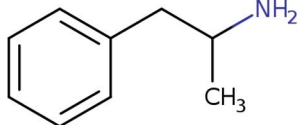
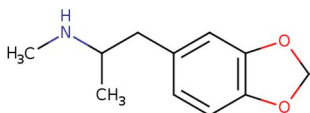
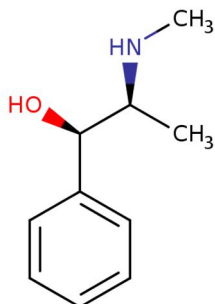
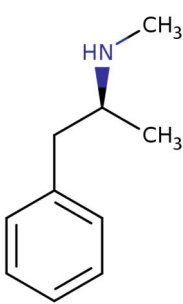
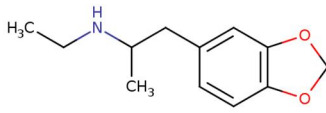
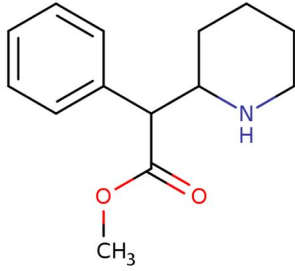
2. Stručná historie amfetaminu

Poprvé byl amfetamin nasyntetizován v roce 1887 jako 1-metyl-2-fenetylamin. Později byl znovu objeven Bargerem a Dalem v roce 1910, dále pak v roce 1927 chemikem G. A. Allesem. Následně byly objeveny jeho stimulační účinky a schopnost vyvolat nespavost a vzrušení. Racemický AMPH byl bez omezení prodáván jako Bazedrin na léčbu narkolepsie, deprese a dalších poruch, dextroamfetamin pak jako Dexedrin. Později od roku 1939 byl pouze na předpis nebo proti podpisu (Heal et al., 2013). Pro posilující vlastnosti byl široce užíván akademiky, profesory a studenty, umělci a dálkovými lidmi. Následně byl užíván ozbrojenými silami během druhé světové války a později i dalších konfliktů. Během války docházelo k velké nadprodukcí a značná část přebyteku léku se dostala na černý trh. Byl také předepisován na léčbu schizofrenie. Byly zaznamenány případy zneužívání. V padesátých letech byl AMPH uznán jako zneužívaná látka a objevily se skupiny těchto uživatelů, kteří se stali paranoidními. To ukazovalo na potenciální psychiatrické nebezpečí. V sedmdesátých letech byla v klinických testech prokázána účinnost obou izomerů AMPH na léčbu poruchy pozornosti s hyperaktivitou (ADHD). Stále rostly případy zneužívání. Do roku 1980 v téměř všech zemích omezila užívání AMPH a postupně se stával zakázanou látkou. V současné době je AMPH zakázanou látkou ve většině zemí, ale díky černému trhu jeho zneužívání zůstává globálním zdravotnickým a sociálním problémem (Berman et al., 2009; Heal et al., 2013; Sulzer et al., 2005).

3. Základní charakteristika amfetaminu

Amfetamin ($C_9H_{13}N$) a jeho deriváty jsou označovány společným termínem šamfetaminy a patří mezi psychostimulační látky, jejichž hlavním účinkem je stimulace centrálního nervového systému (CNS) a periferních nervových systémů. Amfetaminy sdílejí -metyl-fenetyl-aminový motiv, od něhož je také odvozen název amfetamin. Mezi deriváty patří například metamfetamin, metylfenidát, 3,4-metylenedioxyamfetamin (extáze) a fenetylamin. Struktury amfetaminu a některých strukturně příbuzných sloučenin jsou zobrazeny na obrázku 1 (Howell and Kimmel, 2008; Sulzer et al., 2005). AMPH je syntetická látka. Báze AMPH je tavná kapalina nerozpustná ve vodě. Nejčastěji se používají soli

AMPH je sulfát, který má formu bílého prášku, který je ve vodě mírně rozpustný. Je to chirální sloučenina, která existuje ve formě dvou stereoizomerů, které se liší účinností. Dextroamfetamin (*d*-AMPH) je obecně účinnější stimulant, zatímco levoamfetamin (*l*-AMPH) produkuje více kardiovaskulárních a periferních účinků (Berman et al., 2009; Sulzer et al., 1993); (DrugBank [III]); European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction [II]). AMPH je lipofilní slabá báze s $pK_a = 9,9$ (Sulzer and Rayport, 1990) s relativně malou molekulovou hmotností. Snadno může difundovat přes buněčné membrány a lipidové vrstvy a dostávat se do tkání nebo substrátů s pH kyselým než má krev. Jeho metabolismus zahrnuje N-dealkylaci, deaminaci a oxidaci (de la Torre et al., 2004). AMPH je možno požit a – upat, lze do těla vpravit injekčně a jeho sulfát je dostupný v tabletách ke kouření (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction [II]).

		
Amfetamin	3,4-metylenedioxyamfetamin	Efedrin
		
Metamfetamin	3,4-metylendioxyetamfetamin	Metylfenidát

Obrázek . 1: STRUKTURA AMFETAMINU A PŘÍKLADY STRUKTURNĚ PODOBNÝCH SLOUČENIN, převzato z DrugBank [III]

4. Použití amfetaminu

4.1. Lékařské použití

Dříve byl AMPH používán na léčbu depresí, schizofrenie, obezity, ADHD a spánkových poruch včetně narkolepsie. V současné době je schválen pro léčbu ADHD a narkolepsie. ADHD patří mezi nejvíce diagnostikované psychiatrické poruchy, vyskytuje se u 1,7 až 16 % dětí školního věku a 1 až 5 % dospělých. Amfetaminy se používají na léčbu hlavně u dětí a dospívajících, u dospělých pak jako udržovací léčba. Podává se intravenózně i orálně. Při jeho předepisování se postupuje s velkou opatrností vzhledem k vysokému potenciálu rekreačního zneužívání a vzniku závislosti (Heal et al., 2013). Léčba amfetaminy v brzkém věku je spojena se zpomaleným výškovým a hmotnostním růstem (Berman et al., 2009).

Mezi farmaceutické přípravky patří například Adderall (směs *d-* i *l*-AMPH), Dexedrine a Dextrostat (soli *d*-AMPH), Vyvanse (lisdexamfetamin, který je v krvi konvertován na *d*-AMPH), ale i mnoho dalších (Heal et al., 2013; Howell and Kimmel, 2008).

4.2. Rekreační užívání a zlepšení výkonu

Amfetaminy jsou zneužívány pro úbytek na váze, zvýšení energie, odložení spánku, zlepšení sportovního výkonu, nebo posílení při sociálních aktivitách. Z těchto důvodů jsou široce zneužívány zejména studenty, umělci, dálkovými jezdci a sportovci. Jsou předmětem antidopingových kontrol (Berman et al., 2009).

5. Vedlejší účinky amfetaminu

5.1. Vedlejší fyzické účinky

Mezi fyzické vedlejší účinky užívání AMPH patří nevolnost, zvracení, kee v b i-e a následná ztráta váhy, zvýšení krevního tlaku a srdeční frekvence, zhoršení motoriky, tiky, zvýšení hybnosti a horečka (Berman et al., 2009; Heal et al., 2013).

5.2. Vedlejší psychické účinky

Podávání AMPH vyvolává celou škálu behaviorálních změn v závislosti na dávce. Mezi ně patří zvýšení vzrušení a bdlosti, hyperaktivita, stereotypní pohyby, deprese, navozuje libý stav a euforii. Dále sem patří i ztráta chuti, emoční labilita, nervozita, nespavost, neklid, podrážděnost, úzkost, smutek i sociální otařitost (Berman et al., 2009; Heal et al., 2013). AMPH také vyvolává preferenci místa spojeného s jeho užíváním (Childs and de Wit, 2009).

5.3. P edávkování

Nadm rné uflívání AMPH doprovází neurologické a kardiovaskulární vedlej-í ú inky, ale i ledvinové, plicní a gastrointestinální ú inky. Projevy p edávkování jsou roz-í ené zornice, t es, neklid, k e e, bolest hlavy, sucho v ústech, sk ípání zub , pocení, hore ka, bojovné afl agresivní chování, zmatenost, halucinace, delirium, úzkost, paranoia, pohybové poruchy a záchvaty, které mohou p ejít do epileptického stavu. M fle nastat i kóma, rozpad svalstva a selhání ledvin. Z kardiovaskulárních ú ink nastává tachykardie, hypertenze a arytmie. Mezi mén asté nefládoucí ú inky pat í infarkt myokardu. Dal-í ú inky z velkého p edávkování mohou zahrnovat zrychlené dýchání, metabolickou acidózu a gastrointestinální ischemii (de la Torre et al., 2004; Spiller et al., 2013). Soustavné uflívání a vysoké dávky AMPH mohou vyvolat psychózu, která se projevuje chováním podobným schizofrenii. Vytvárá paranoidní bludy a halucinace (Berman et al., 2009).

Hypertermie p i p edávkování souvisí s neurotoxicitou, p i které hraje roli oxidativní stres. Dochází k nadprodukci superoxidových radikál , které mohou interagovat s peroxidem vodíku a produkovat více cytotoxické hydroxylové radikály, což vede k následné degradaci dopaminergního systému (Krasnova et al., 2001).

6. Farmakologie amfetaminu

6.1. Farmakokinetika amfetaminu

Amfetaminy jsou dob e absorbovatelné v-emi cestami podávání. Snadno se absorbují oráln , s fládným výrazným zpořd ním v p ítomnosti jídla (Tulloch et al., 2002). Maximální plazmatické koncentrace je dosaeno b hem 2 ó 3 hodin po orálním poflití nebo intramuskulární injekci. Amfetaminy jsou lipofilní, což jim umořuje snadno p ekro it hematoencefalickou bariéru. AMPH je slabá báze s $pK_a = 9,9$ a je -íroce distribuován do v-ech tkání. Amfetaminy jsou eliminovány játry a ledvinami, 30 ó 40 % je vylu ováno v nezmen né form , zbytek je p em n n na metabolity. Renální exkrece je siln ovlivn na pH mo i, poflití kyselých látek zp sobuje zrychlené vylu ování, naopak p íjem alkalických látek zvy-uje jeho zadržování a absorpci. Plazmatický polo as je ovlivn n renální eliminací, rozsah je od 7 do 14 hod p i pH mo i niř-ím neř 6,6 a afl do 34 hod v p ípad pH mo i vy-ím neř 6,7 (Berman et al., 2009; Spiller et al., 2013; Sulzer and Rayport, 1990).

6.2. Farmakodynamika amfetaminu

6.2.1. Monoaminový systém

V posilujících a behaviorálních stimulantech se uplatňují hlavně monoaminy.

Monoaminy dopamin (DA), norepinefrin (NE) a serotonin (SER) slouží jako neurotransmitery, jsou syntetizovány v neuronech a skladovány v synaptických váčích v nervových zakončeních. V odpovědi na vzruch neuronu jsou neurotransmitery uvolňovány do synaptické štěrbině, kde interagují s pre- i postsynaptickými receptory. Interakce s postsynaptickými receptory vyvolává změnu v excitabilitě postsynaptické buňky a tím i přenos vzruchu mezi pre- a postsynaptickou buňkou. Monoaminergní signalizace je regulována zpětným vychytáváním neurotransmiteru (Howell and Kimmel, 2008). K intracelulární degradaci neurotransmiterů dochází pomocí enzymů monoaminoxidázy (MAO), aldehyddehydrogenázy a katechol-O-metyltransferázy (Bortolato et al., 2008).

Dále se v mozku nachází stopové aminy (např. -fenetylamin, tyramin, oktopamin a tryptamin), které působí jako neuromodulátory klasických neurotransmiterů. Změny jejich hladin jsou spojovány s různými neuropsychiatrickými poruchami, které se vyznačují změnami v monoaminergní aktivitě, jako jsou schizofrenie, ADHD, deprese a Parkinsonova choroba (Ledonne et al., 2011; Miller, 2011).

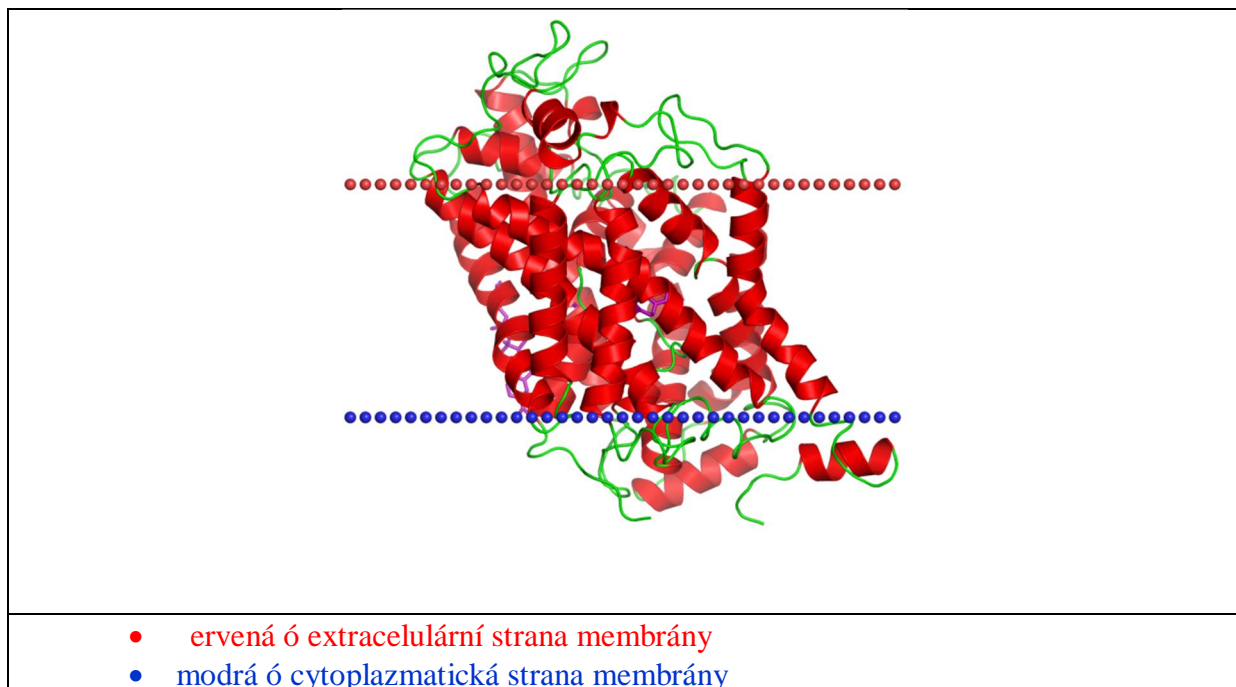
DA je zapojen v pohybových, poznávacích, paměťových a odměňovacích procesech. Je produkován v substantii nigra, ventrální tegmentální oblasti (VTA) a hypotalamu, které následně ovlivňují caudate nucleus, nucleus accumbens (NAc) a prefrontální kortex (PFC). NE hraje roli při vzrušení, v pozornosti, paměti a náladě. Je syntetizován v locus coeruleus a okolním jádře. SER je produkován neurony nucleus raphe v mozkovém kmeni, které dále ovlivňují kortex, talamus, basální ganglia, hipokampus a amygdalu. Je zapojen do řízení funkcí nálady, spánku, chuti k jídlu, úzkosti, strachu, odměny a agrese.

Uvolnění, zpětné vychytávání a recyklace neurotransmiterů na synapsích jsou regulovány neurotransmisním transportním systémem.

Transportéry monoaminů se nacházejí na plazmatické membráně neuronu a mají strukturu z dvanácti transmembránových α -helixů. Jsou to kotransportéry dvou vápníkových a jednoho chloridového iontu, a pozitivně nabitě molekuly monoaminu (Howell and Kimmel, 2008). Transportéry využívají buněčný gradient sodíku, který je udržován Na^+/K^+ -ATPázou.

Pro všechny monoaminové transportéry může být variabilní zvláštní role Cl^- (Sulzer et al., 2005).

Podle jejich specifity rozlišíme dopaminový transportér (DAT), jehož 3D struktura je znázorněna na obrázku 2, norepinefrinový transportér (NET) a serotoninový transportér (SERT). DAT je nejvíce exprimován v neuronech substantia nigra a je lokalizován perisynapticky. NET se nachází v locus coeruleus a raphe komplexu, hypotalamu, středním hypotalamickým jádrem, kortexu, hipokampu a striatálních oblastech. SERT se nachází ve ventrálním striatu, nucleus raphe, amygdaloidním komplexu a ventromediálním hypotalamu (Howell and Kimmel, 2008).



Obrázek 2: 3D STRUKTURA DOPAMINOVÉHO TRANSPORTÉRU (DAT), převzato z Orientations of proteins in membranes [IV]

Za translokaci neurotransmiterů z cytoplazmy do váček jsou zodpovědné vezikulární monoaminové transportéry 1 a 2 (VMAT1 a VMAT2). Jsou to integrační proteiny membrány sekretárních váček v nervových buňkách a jsou členy rodiny vezikulárních aminových transportérů. Mají 12 transmembránových domén. Tyto proteiny akumulují kladně nabitě monoaminy do sekretárních váček na úkor antiportu s dvěma protony, které byly dříve do váček naakumulovány ATPázou. VMAT1 a VMAT2 transportují všechny monoaminy s podobně stejnou afinitou. VMAT1 se nachází v periferním nervovém systému, ale i v křídlech

a nadledvinách, a VMAT2 se pak nachází i v CNS a buňkách imunitního systému (Eiden et al., 2004).

6.2.2. Receptor stopových amin 1 (TAAR1)

TAAR1 je intracelulární receptor stopových amin, který reguluje funkci monoamin v mozkových striatálních a talamických synaptosomech (Xie and Miller, 2008). Patí mezi receptory spájené s G-proteiny, má jejich typickou strukturu za sedmi transmembránových úsek, která vytváří vazebnou kapsu pro jeho agonisty, antagonisty i modulátory (Lindemann et al., 2005). TAAR1 je v r zné mí e aktivován stopovými aminy (Borowsky et al., 2001), monoaminy (Xie et al., 2008) a n kterými deriváty katecholamin. Gen TAAR1 se u lidí nachází na 12. chromozomu v oblasti q23.1 (Lindemann et al., 2005). TAAR1 byl lokalizována v r zných oblastech v rámci CNS, a to v amygdale, mozečku, dorsálních kořenových gangliích, hipokampu, hypotalamu, podvívku mozkovém, retikulární formaci, dorsálním raphe, locus coeruleus, VTA, substantia nigra, NAc a dále v n kolika periferních tkáních (Borowsky et al., 2001; Xie et al., 2007).

Monoaminové autoreceptory mají opačný účinek než TAAR1 a poskytují regulační systém pro monoaminy (Miller, 2011).

6.2.3. Amfetaminy a modulace monoaminového systému

Amfetaminy vyvolávají své účinky změnou monoaminergní signalizace. AMPH působí jako uvolňovač, který zvyšuje extracelulární monoaminové hladiny obrácením procesu výměny zprostředkované transportérem, čímž se zvyšuje monoaminový výtok. Také zvyšují cytoplazmatické hladiny interferencí s vezikulárními monoaminovými sklady. Psychostimulanty interagují s monoaminovými transportéry. Behaviorální účinky psychostimulant spojené s jejich návykovými vlastnostmi jsou spojeny s posílením dopaminové aktivity. Mezokortikolimbický dopaminový systém zahrnuje dopaminové neurony začínající ve VTA středního mozku s další projekcí do n kolika limbických a kortikálních struktur, včetně NAc, amygdaly a PFC (Howell and Kimmel, 2008). AMPH působí na DAT, NET, i SERT, na který působí nejméně (Han and Gu, 2006). Nejlépe je prozkoumána účinnost AMPH na DAT.

Do buňky vstupuje AMPH pomocí DAT (Sitte et al., 1998) nebo může difundovat přes plazmatickou membránu, což je umožněno díky jeho lipofilním vlastnostem (Jones et al., 1998). AMPH v buňce aktivuje TAAR1 (Bunzow et al., 2001) nebo vstupuje do synaptických váček pomocí VMAT2 (Erickson et al., 1996), z kterých následně uvolní naakumulovaný DA

(Jones et al., 1998). Aktivace TAAR1 spouští signální kaskádu, která vede k ovlivnění funkcí monoaminových transportérů (Miller, 2011). AMPH inhibuje vezikulární výlev DA do extracelulárního prostoru, v němž hrají roli D2 receptory (Schmitz et al., 2001).

AMPH snižuje obsah DA ve váčích a redistribuuje ho do cytosolu (Mosharov et al., 2003; Sulzer et al., 1995). AMPH vstupuje do synaptických váček pomocí VMAT2 (Erickson et al., 1996) nebo do nich díky svým lipofilním vlastnostem může difundovat přes membránu (Jones et al., 1998). AMPH interaguje s VMAT2 stereospecificky, *d*-AMPH izomer je asi pětkrát účinnější než *l*-AMPH. Také interaguje s VMAT1, ale s desetkrát až dvacetkrát nižší afinitou než s VMAT2 (Erickson et al., 1996). Pro vysvětlení účinku AMPH a působení sloučenin na vezikulární váčky byla navržena Hypotéza slabé báze. AMPH jako slabá lipofilní báze s $pK_a = 9,9$ má schopnost přijímat protony (Sulzer and Rayport, 1990). V kyselých organelách včetně synaptických váček je tedy protonizován a jako nabitý se stává nepropustný pro membránu, díky čemuž je zde AMPH akumulován a alkalizuje zde prostředí. Díky tomu dochází ke snížení energie pro akumulaci neurotransmiteru. AMPH tak sám jako slabá báze působí na gradient pH a k modulaci akumulace neurotransmiteru nedochází díky inhibici protonové pumpy nebo VMAT2. Tento efekt je závislý na dávce (Sulzer and Rayport, 1990). K uvolnění dopaminu ze synaptických váček však dochází i jinými mechanismy, rozdíl je patrný při nízkých a vysokých koncentracích AMPH (Floor and Meng, 1996). Byla navržena kompetice stimulantu a neurotransmiteru přímo o vazebné místo na VMAT2 (Peter et al., 1994). Tedy za standardních podmínek, kdy je v těle DA skladována ve váčích a tyto váčky jsou neporušené, je následný AMPH vyvolaný výdej DA v těle (Fon et al., 1997).

AMPH tedy snižuje akumulaci vezikulárního DA jeho redistribucí do cytoplazmy. Zvyšování hladina cytoplazmatického DA je pak dostatečná k podpoře stejného výlevu reverzním transportem (Sulzer et al., 1993), takže cytosolický DA je následně rychle uvolněn z buňky. (Mosharov et al., 2003; Sulzer et al., 1995).

Pro působení AMPH na DAT byl navržen model usnadněné výměnné difuze. Ten je založený na existenci vazebného místa na transportéru pro substrát (na DAT), které se může pohybovat napříč plazmatickou membránou. Reverzní transport nastává, když vazebné místo po uvolnění substrátu (AMPH) smůže do cytosolu, následně se do něj váže jiná cytosolická molekula (DA), která je po návratu vazebného místa na vnější stranu uvolněna do extracelulárního prostoru. Tento pohyb je poháněn substrátem, takže je zde omezení jedné molekuly uvolněné z buňky na každou molekulu substrátu (jedna molekula DA na jednu molekulu AMPH) (Sulzer et al., 2005). Přímé vpravení AMPH do dopaminového neuronu (AMPH tedy nebyl

transportován pomocí DAT) však také vyvolává reverzní transport DA (Sulzer et al., 1995). Transport substrátu přes DAT je spojen s Na^+ a Cl^- ionty. Působení AMPH vyvolá zvýšení intracelulárního Na^+ a toto zvýšení dále může vést k výlevu DA i v nepřítomnosti extracelulárního AMPH (Khoshbouei et al., 2003). To vše ukazuje, že vysvětlení pomocí usnadněné difuze není postačující.

Bylo zjištěno, že AMPH způsobuje DA výlev zprostředkovaný DAT dvěma nezávislými mechanismy a to pomalým procesem, který je v souladu s výše uvedeným mechanismem a procesem, který vede k rychlé události výlevu DA zprostředkovaným podobným kanálem a tímto způsobem je uvolněno významné množství DA. Extracelulární DA na rozdíl od AMPH nevyvolává chování DAT jako kanál, ale inhibuje ho, a to může být základem pro AMPH psychoaktivní vlastnosti (Kahlig et al., 2005). AMPH vyvolává elektrické proudy a v těchto proudy vyvolávají v této uvolnění DA (Sitte et al., 1998). AMPH vyvolá zvýšení intracelulárního Na^+ . Pížení intracelulární koncentrace sodíku AMPH stimuloval DAT kanálovou aktivitu, ale DA ne, takže i když intracelulární sodík může hrát roli v rozdílu mezi AMPH a DA v režimu výlevu podobnému transportu, nemůže hrát roli v různých úincích AMPH a DA na kanálový režim (Kahlig et al., 2005).

Dále byl navržen sjednocený model, který zahrnuje roli substrátu a iontových gradientů i vlastností podobného kanálu. V tomto modelu může být transportováno několik substrátů bez vazebného místa, které by putovalo membránou. V tomto modulu není žádné omezení výše uvedené molekuly substrátu za jinou. Reverzní transport může následovat elektrochemické, iontové nebo substrátové gradienty, které působí na snížení energetické bariéry pro příznivou konformaci, která umožňuje translokaci. V případě AMPH reverzního transportu by to bylo zjištěno působením AMPH jako samotného substrátu nebo jeho doprovodnými kotransportovanými ionty (Sulzer et al., 2005).

Při výlevu DA zprostředkovaném AMPH hraje roli i fosforylace. Bylo zjištěno, že k umožnění výlevu DA je nezbytná interakce fosforylovaného N-konce DAT bu s jinou částí DAT, nebo s nějakým asociovaným proteinem (Khoshbouei et al., 2004). Místa, která jsou na N-konci fosforylována, jsou seriny. Klíčovou roli v regulaci aktivity a dostupnosti DAT na povrchu buněk hraje proteinkináza C (PKC). Aktivace PKC je doprovázena paralelním zvýšením fosforylace DAT, což vede k rychlé sekvestraci transportéru z buněného povrchu do intracelulárního prostoru endocytózou, a následně vyvolává výrazný pokles v transportní aktivitě DAT. Recyklace DAT z endosomu je nezbytná k udržení ustálených povrchových hladin DAT a aktivace PKC tuto recyklaci zpětně k plazmatické

membrán zpomaluje (Granás et al., 2003; Loder and Melikian, 2003; Melikian and Buckley, 1999). Role PKC při uvolnění DA vyvolaném AMPH je potvrzena i tím, že selektivní inhibitory PKC účinně blokují tento výlev (Kantor and Gnegy, 1998). PKC ale reguluje vychytávání DA i po mutaci fosforylačních míst na DAT, což naznačuje, že regulace funkce DAT prostřednictvím PKC je zřejmě sama o sobě, jako je například fosforylace neznámým mediátorovým proteinem, než pomocí fosforylací DAT (Chang et al., 2001). Role PKC byla potvrzena i pro výlev DA prostřednictvím NET, který vyřazuje přítomnost intracelulárního Ca^{2+} (Kantor et al., 2001). Na regulaci aktivity DAT může mít vliv i fosfatidylinositol-3-kináza (PI3K), jejíž činnost je ovlivněna inzulinem (Carvelli et al., 2002).

AMPH a jeho analogy přímo aktivují receptor TAAR1, přičemž se AMPH jeví jako nejúčinnější aktivátor, ale některé jeho strukturní modifikace výrazně snižují jeho účinnost na tento receptor (Bunzow et al., 2001). V odpovědi na AMPH aktivovaný TAAR1 negativně moduluje rychlost stělny dopaminových neuronů a uvolnění DA (Lindemann et al., 2008). Inhibiční účinek je zprostředkován pomocí aktivací receptorů D2 zřejmě zvýšeným uvolněním DA (Geracitano et al., 2004). Aktivace TAAR1 vyvolá dovnitř usměrněný proud K^+ aktivací kanálu K_{ir3} (dovnitř usměrněný draslíkový kanál 3) (Bradaia et al., 2009). TAAR1 je široce koexprimován s DAT, NET a SERT v rámci CNS, což vede k významnému posílení jeho aktivity (Miller et al., 2005; Xie et al., 2007). Aktivace TAAR1 vede k inhibici vychytávání DA a podpoře jeho výlevu pomocí reverzního transportu DAT (Xie and Miller, 2007), má i vychytávací a efluxní funkce NET a SERT (Xie and Miller, 2008). Aktivace TAAR1 spouští internalizaci DAT, která má za následek snížení transportní kapacity DAT, což je v souladu s pozorovanou inhibicí vychytávání. Výlev DA, který nastává ve stejné době jako internalizace DAT, je zprostředkován molekulami DAT, které zůstávají na buněném povrchu. Účinky na DAT vyvolané aktivací TAAR1 jsou závislé na proteinkináze C a proteinkináze A (PKA) (Xie and Miller, 2009). Dochází k stimulaci PKC prostřednictvím aktivace fosfolipázy C, která je závislá na intracelulárním Ca^{2+} (díky výměně Na/Ca) a endogenním DA. Dochází také k inhibičnímu účinku aktivity PKC díky aktivaci fosfolipázy A_2 , která je spouštěna zvýšením intracelulárního pH (Giambalvo, 2004). PKA upreguluje DAT zvýšením hustoty aktivního DAT v rámci membrány. DAT je regulováno PKA i PKC, ale v opačných směrech. Tyto dva fosforylační systémy působí nezávisle (Batchelor and Schenk, 1998). Aktivace TAAR1 dále vede ke stimulaci adenylátcyklázy (AC) prostřednictvím G_s -G-

proteinu a následně k produkci cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP), což vede k otevření kanálu CTFR (Borowsky et al., 2001).

AMPH a molekuly s podobnou strukturou v buňce inhibují enzym MAO (Jones et al., 1998), který je důležitý pro degradaci neurotransmiterů (Bortolato et al., 2008), AMPH též inhibuje tyrosinhydroxylázu (Sulzer et al., 2005). Dále působí jako nekompetitivní inhibitor nikotinového acetylcholinového receptoru (AChR) (Spitzmaul et al., 1999). AMPH má také úinky na glutamatergní signalizaci. AMPH v dopaminových neuronech stimuluje endocytózu excitatorního aminokyselinového transportéru 3 (EAAT3) a posiluje excitatorní synaptické odpovědi v dopaminových neuronech (Underhill et al., 2014). Dále má inhibiční úinky na transport DA, NE a SER zprostředkovaný organickým kationtovým transportérem 3 (OCT3), ale toto působení výrazně nepřispívá ke zvýšení extracelulární hladiny DA (Zhu et al., 2010). AMPH také uvolňuje histamin ze zásobních váček v bílých buňkách CNS a histaminergních neuronech hypotalamu prostřednictvím VMAT2 (Eiden and Weihe, 2011).

7. Amfetamin a závislost

Drogové zneužívání a závislost jsou vysoce komplexní poruchou (Howell and Kimmel, 2008). Závislost obecně vzniká po opakovaném působení drog. Bez ohledu na způsob užití amfetaminu, následné pravidelné užívání drogy je motivováno pocitem nepohodlí spojeným s vysazením návykové látky. Závislost je definována jako ztráta kontroly nad užíváním drog, jejich kompulzivní vyhledávání a užívání navzdory nepříznivým tělesným i psychickým následkům. Mezi projevy také patří zvýšená látková tolerance, zvýšený příjem potravy, opakující se touha po snížení užívání drogy, následně pak příznaky abstinence, snížení sociálních, pracovních a rekreačních aktivit. Jakmile se závislost jednou vytvoří, může být i celoživotním problémem, při kterém jednotlivci vykazují intenzivní chuť na drogu a zvýšené riziko relapsu i po letech abstinence (Berman et al., 2009; Nestler, 2001).

Mozkový systém odměny zahrnuje mezolimbické dopaminergní dráhy, zejména VTA, odkud jsou signály přeneseny do NAc. VTA také posílá dopaminergní signály do caudate putamen, olfaktorického bulbu, amygdaly a PFC. NAc je subkortikální oblast, která se nachází ve ventrálním striatu a podílí se na emocionálních projevech, potěšení (odměna), závislosti, strachu, placebo efektu a agresi. Hlavním buněčným typem jsou inhibiční střední ostnaté neurony (Ruffle, 2014). Opakovaná silná stimulace neuronů v těchto oblastech je zmíněným způsobem, který vede ke změně v posilujících mechanismech a motiválním stavu.

Mezi funkční změny spojené se závislostí patří tolerance, která přispívá ke stupňování potřebování drogy během vývoje závislosti, dependence přispívající k dysforii a vysoké míře relapsu během raných fází po odnětí drogy a senzibilizace přispívající k zvýšenému riziku relapsu po velmi dlouhou dobu (Nestler, 2001).

Systém odměny je aktivován stimuly, které podporují evoluční fitness organismu, jako jsou potraviny bohaté na živiny, sex a sociální stimulace. Návykové látky aktivují systém odměny zvýšením dopaminergní transmisí v mnohem větší míře než přirozené zdroje odměny a bez spojení s produktivními výsledky chování. Chronická expozice drogám moduluje mozkové odměňující oblasti včetně přes znečitlivění, které jiní jedince neschopným v nepřítomnosti drogy dosáhnout dostatečným pocitem odměny (Robison and Nestler, 2011). Amfetaminové stimulanty působí jako nepřímý agonisté dopaminových receptorů stimulací uvolnění dopaminu (Nestler, 2001).

7.1. Závislost na molekulární úrovni

Chronické zneužívání drog vyvolává relativně stabilní změny v mozku regulací genové exprese, a tyto změny zdrazují behaviorální změny charakterizující návykový stav. Transkripční faktory podílející se na těchto změnách jsou FosB, CREB (cAMP-response element binding protein) a NF- κ B (nukleární faktor kappa B).

Psychostimulanty je ovlivněno mnoho genů (Berke et al., 1998; McClung and Nestler, 2003). Zajímavé jsou *immediate early* geny (IEGs), které hrají roli v neuroplasticitě. Mnoho IEGs kóduje transkripční faktory, které dále regulují expresi jiných genů (např. c-Fos). Další kódují proteiny kotvící receptory, které hrají roli při směřování receptorů, formaci dendritických trnů a dalších procesech synaptické plasticity. Stimulace receptorů D1 a výsledná aktivace signálních kaskád druhých poslů jsou kritické pro genovou regulaci vyvolanou psychostimulanty (Steiner and Van Waes, 2013). AMPH indukuje IEGs v nigrostriatálním D1 subtypu neuronů. Indukce c-Fos ve striatu závisí na stimulaci dopaminových receptorů D1. cAMP/kinázová a vápníková, nebo Ca²⁺ kinázová signalizace mohou přispívat k indukci, pro receptory D1 jsou pozitivně spojeny s AC a fosfatidylinositolovou signální dráhou (Graybiel et al., 1990). Receptory D2 také mají genovou regulaci, jejich stimulace inhibuje genovou expresi a jejich blokáda ji posiluje (Steiner and Van Waes, 2013).

7.1.1. FosB a jeho úloha v závislosti

FosB je kódován genem *fosB* a je členem rodiny transkripčních faktorů Fos, které heterodimerizují s proteiny rodiny Jun do aktivního aktivátorového proteinu 1 (AP-1), který

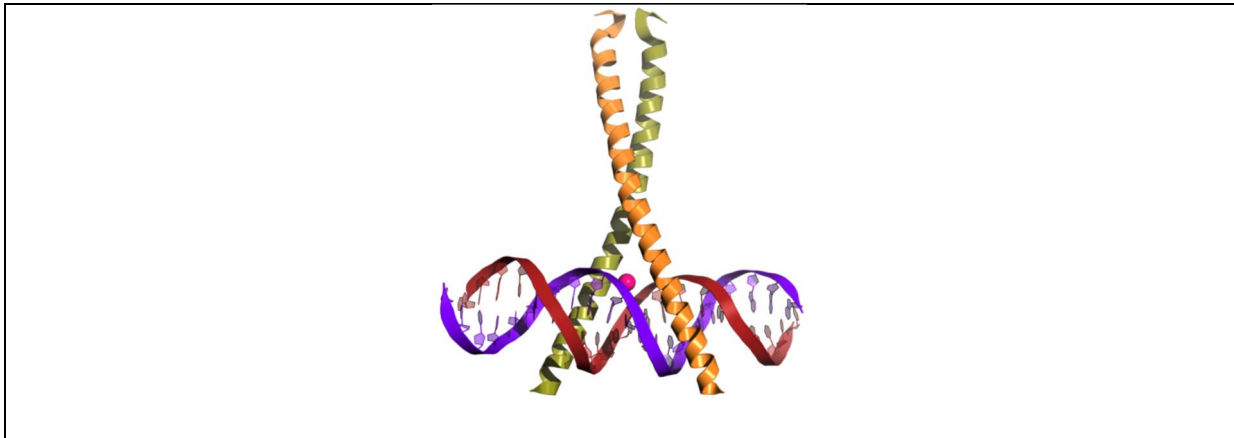
se váže do promotorů určitých genů a reguluje jejich transkripci (Nestler, 2008). 35-37kDa izoformy FosB jsou stabilní, což způsobuje jejich pomalou akumulaci ve specifických mozkových oblastech, zejména v NAc a dorsálním striatu v mnohých striálních neuroních, které exprimují dopaminové receptory D1, po chronickém podávání drogy (Chen et al., 1997; Robison and Nestler, 2011). Akumulace proteinu FosB není spojena s progresivním zvýšením sestihu primárního transkriptu *fosB* do mRNA *FosB*. K nejvýznamnějšímu posunu v generování *FosB* mRNA vs. *FosB* mRNA dochází během poátní indukce genu *fosB*. Bylo navrženo, že sestihu primárního transkriptu *fosB* je regulován především množstvím transkriptu dostupného pro sestihový aparát, nad určitou prahovou úrovní je zbývající primární transkript alternativně spojen do FosB. PTB1 (polypyrimidine tract binding protein 1) reguluje alternativní sestihu transkriptu *fosB* (Alibhai et al., 2007). Neobvyklá stabilita FosB je způsobena fosforylací vysoce konzervovaného N-koncového serinu (Ser27) pomocí kaseinové kinázy 2 (CK2), která ho chrání od proteosomální degradace. Tato fosforylace místo také hraje roli v regulaci transkripční aktivity tohoto proteinu (Ulery and Nestler, 2007). Dále je stabilita tohoto proteinu způsobena tím, že neobsahuje dvě C-koncové domény, které jsou přítomny u FosB, a ty podporují jeho proteinovou degradaci. Jedna doména je nezávislá na proteasomu (aminokyseliny 238-277) a druhá je na citlivá vzhledem k proteasomu (aminokyseliny 278-338). V rámci druhé senzitivní domény byly identifikovány dvě oblasti. Aminokyseliny 278-317, které jsou nezbytné pro polyubiquitinační signál a pro přímou degradaci proteasomem, a aminokyseliny 318-338, které také destabilizují FosB, ale způsobem nezávislým na proteasomu (Carle et al., 2007). Díky této stabilitě FosB proteiny zůstávají v neuronech po několik týdnů po expozici drogy. Isoformy FosB se jednoduše spojují s JunD do formy komplexu AP-1, jehož cílem je také gen NMDAR1 (gen pro podjednotku receptoru NMDA; N-methyl-D-aspartate receptor 1). Isoformy FosB podporují dlouhotrvající transkripční odpovědi závislé na AP-1, které jsou kritické pro neuronální a behaviorální plasticitu (Hiroi et al., 1998). Bylo nalezeno mnoho transkripčních cílů (některé aktivované, některé potlačené) FosB. Reguluje mnoho genů spojených se stavbou striálních neuronů, podporuje expresi genů zapojených do inhibice buněčného růstu, buněčné odpovědi na stres a dokonce i apoptózy, dále ovlivňuje gen cyklin-dependentní kinázy 5 (CKD5), čímž pravděpodobně způsobuje změny ve struktuře dendritů, potlačuje expresi dynorfinu. FosB také reguluje proteiny, které jsou důležité pro funkci glutamatergických synapsí a plasticity, včetně podjednotky GluR2 glutamátového receptoru AMPA (alfa-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalozu), a Ca²⁺/kalmomodulin-dependentní kinázy II (CaMKII) (Bibb et al., 2001; Kelz et al., 1999;

McClung and Nestler, 2003; Nestler, 2001; Robison and Nestler, 2011). FosB také po chronickém užívání AMPH potlačuje gen *c-fos*. Váže se do promotoru *c-fos*, způsobí deacetylaci okolních histonů pomocí HDAC 1 (histondeacetyláza 1), a tím sníží transkripční aktivitu *c-fos*. Současně s tím je vyvoláno zvýšení represivní histonové metylace na H3K9 v promotoru *c-fos*, což je spojeno s upregulací histonové metyltransferázy KMT1A (lyzinová metyltransferáza 1A) vyvolanou AMPH (Renthal et al., 2008). FosB tak zprostředkovává klíčovou roli v plasticitě vyvolané po drogové expozici (Robison and Nestler, 2011). Indukce FosB v neuronech NAc zvyšuje senzitivitu k droze a podporuje jedince v podávání si drogy podobným procesem pozitivního zesílení (Nestler, 2013). FosB je přímo spojen s chováním spojeným se závislostí. Zvyšuje expresi FosB v D1 typu striálních trnitých neuronů v NAc a dorsálním striatu způsobuje zvýšenou lokomotorickou citlivost na drogu a zvyšuje podmíněné místní preference. Zvyšuje expresi FosB v určité oblasti prefrontálního kortexu způsobené chronickým podáváním drogy vyvolává toleranci na poznávání narušující úinky způsobené akutním podáním drogy (Robison and Nestler, 2011).

7.1.2. CREB a jeho úloha v závislosti

CREB je transkripční faktor, který se váže do tisíce promotorů, ale ne všechny geny jsou touto vazbou regulovány. Hraje významnou roli v učení a paměti. Je exprimován v buňkách celého mozku a návykovými látkami je významně indukován v NAc (Carlezon et al., 2005), kde působí hlavně jako aktivátor. Jen malé množství genů je pomocí něj regulováno a CREB může tyto geny regulovat skrz indukci jiných transkripčních represorů (McClung and Nestler, 2003). Aktivace CREB je vyvolána několika signálními dráhami, které zahrnují cAMP a AC (Impey et al., 2004) a Ca^{2+} a MAPK (mitogen activated protein kinase). K vyvolání transkripce je potřeba jeho dimerizace, navázání na CRE elementy (cAMP-response elements) v DNA (vazba CREB na DNA je znázorněna na obrázku 3) a fosforylace. CRE elementy mají konsenzus nukleotidivou sekvenci TGACGTCA, která se nachází v promotorových nebo enhancerových oblastech (Carlezon et al., 2005). Dimery CREB působí jako transkripční spínač, který integruje vápníkové a cAMP signály a koordinuje genovou expresi (Matthews et al., 1994; Wu and McMurray, 2001). Dimery CREB jsou v inaktivní formě vázány na CRE místech a události na neuronálních membránách spouští signální kaskády, což vede k fosforylaci obou dimerových jednotek a k vyvolání transkripční aktivity. D1 receptory aktivují excitatorní G_s spojené receptory, které stimulují AC, zvýší se hladina cAMP a uvolní se katalytické podjednotky. Tyto volné podjednotky posléze vstupují do jádra, kde fosforylují

CREB, s Ca^{2+} asociované intracelulární posly, a pomocí MAPK aktivované kinázy (např. RSK2) (Xing et al., 1996) mohou podobně zvyšovat fosforylaci CREB (Carlezon et al., 2005). PKA nebo CaMK IV (Ca^{2+} /calmodulin-dependent kinase IV) fosforylují CREB na serinu 133. CREB pak existuje jako fosforylovaný dimer na DNA a může se úspěšně vázat s CBP (CREB binding protein) (Matthews et al., 1994; Wu and McMurray, 2001). Fosforylace CREB také aktivuje kaskádu událostí, která zahrnuje rekrutování dalších asociovaných proteinů a shromáždění velkého transkripčního komplexu. Tento transkripční komplex podporuje procesy jako je acetylace histonů, které mají konformaci chromatinu a umožňují syntézu mRNA RNA polymerázou II. Je mnoho fosforylačních míst na CREB proteinu, které různě regulují aktivitu CREB (Carlezon et al., 2005). V přítomnosti CaMKII, která je upregulovaná s prodlouženou nadměrnou expresí FosB (McClung and Nestler, 2003), nebo dalších kináz, které mohou modifikovat CREB na serinu 142, je zabráněno dimerizaci CREB, který není schopný se vázat s CBP, a to způsobuje inhibici transkripce (Matthews et al., 1994; Wu and McMurray, 2001). CREB regulace je zapojena v regulaci těch genů v mozku, které jsou spojeny s neuropsychiatrickými poruchami, genů kódujících další transkripční faktory, transkripční represory, intracelulární posly, enzymy syntézy neurotransmiterů, peptidové transmitery, růstové faktory, opioidní peptidy a podjednotky neurotransmiterových receptorů. Mezi cílové geny CREB také patří dynorfin, který způsobuje potlačení dopaminergní signalizaci do NAc, a geny podjednotek iontových kanálů a receptorů, které kontrolují excitabilitu v NAc (Robison and Nestler, 2011). CREB je zapojen v řízení paměti, závislosti, depresi a vzrušení. Změny ve funkcích CREB ve striatu jsou také spojeny se závislostí (Carlezon et al., 2005). Opakované vystavování stimulantů zvyšuje aktivitu cAMP-PKA dráhy v NAc, a tak i transkripci zprostředkovanou CREB v D1 i D2 typu striálních trnitých neuronů (Robison and Nestler, 2011). Přímá aktivace PKA, která zvyšuje fosforylaci CREB v NAc redukuje odmítavé účinky. Soustavná aktivace CREB v NAc je mechanismus, kterým návykové drogy vyvolávají toleranci na jejich odmítavé účinky a také vyvolává ztrátu ve velikosti odmítnutí na přirozený stimul po drogovém ošetření (Barrot et al., 2002). Zvýšená exprese dynorfinu zprostředkovaná CREB je spojena s averzí nebo depresivními efekty, které jsou často spojené s vysazením drogy (Carlezon et al., 2005). Uvolněný ve striatu působí opioidní peptid dynorfin na postsynaptických kappa receptorech neuronů a přímě inhibuje účinky stimulace D1 receptorů a indukci IEG (Steiner and Gerfen, 1998). Aktivace CREB také zvyšuje elektrickou excitabilitu NAc neuronů (Carlezon et al., 2005). Aktivita CREB v NAc hraje roli v drogovém posílení chování, které vede k podávání si drogy (Larson et al., 2011).



Obrázek . 3: TRANSKRIP NÍ FAKTOR CREB VÁZANÝ NA DNA, převzato z Wikipedia The Free Encyclopedia [V]

Genová exprese po akutním působení drogy je více závislá na CREB, zatímco genová exprese po dlouhodobém užívání je více závislá na FosB (McClung and Nestler, 2003).

Akutní podání AMPH zvyšuje expresi CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) (Vicentic and Jones, 2007). CART jsou peptidy, jejichž hladiny jsou regulovány po akutním podání psychomotorických stimulantů AMPH a kokainu (Douglass et al., 1995). CART gen může být pozitivně regulován dráhami zahrnujícími cAMP, tedy pomocí CREB, ale i jiných transkripčních faktorů (Dominguez et al., 2002). CART hladiny mRNA jsou zvýšeny v mozku lidských osob při podání kokainem (Tang et al., 2003). V mozku byly identifikovány v NAc (Douglass et al., 1995; Smith et al., 1999; Smith et al., 1997), striatu (Hurd and Fagergren, 2000), VTA a substantia nigra (Dallvechia-Adams et al., 2002), hypofýze, dále pak v nadledvinách, slinivce břišní a střev. CART jsou spojené s různými fyziologickými procesy, jako je stravování, remodelace kostí, kardiovaskulární procesy, smyslové zpracování, stres a úzkost, a odměňující a posilující účinky psychostimulantů (Vicentic and Jones, 2007) a mohou hrát roli v neuroendokrinní sekreci (Douglass et al., 1995). CART peptidy mohou sloužit jako kotransmitery v subpopulaci GABAergních (gammaaminobutyric acid) zakončení v NAc (Smith et al., 1999; Smith et al., 1997). CART peptidy modulují mezolimbický dopaminergní systém, hrají tak roli v drogové závislosti a kontrole stravovacího chování (Dallvechia-Adams et al., 2002), mají psychostimulační účinky a vliv na pohybovou aktivitu a upravují místa preference. Mutace v CART genu jsou

spojeny s poruchami přijmu potravy, včetně obezity a anorexie. Je velmi málo známo o jejich metabolismu (Vicentic and Jones, 2007).

7.1.3. NF- B a jeho úloha v závislosti

NF- B je transkripční faktor, který je aktivován různými stimuly (Robison and Nestler, 2011). Je aktivován glutamátem, také bazální úrovní synaptické stimulace a pomocí CaMKII. Má schopnost regulovat transkripci na základě své citlivosti k Ca^{2+} (Meffert et al., 2003). NF- B souvisí se synaptickou plasticitou a pamětí (Robison and Nestler, 2011), také hraje roli v odpovědi na poranění a stres (Meffert et al., 2003). Nadměrná signalizace NF- B ve středních trnitých neuronech v NAc působí na morfologii neuronů, podílí se na přefíování neuronů a reguluje odměňující odpovědi na drogu, podílí se na zvýšené citlivosti k odměňujícímu účinku drogy. Jeho zvýšená aktivace zvyšuje hustotu dendritických trnů, dále způsobuje strukturální změny, které zprostředkovávají účinky na základě odměňujícího efektu (Russo et al., 2009).

7.2. Abstinence

Abstinenční příznaky v prvních dnech abstinence po chronickém užívání AMPH svádí jedince k návratu k pravidelnému užívání drogy. Po vysazení je zaznamenán časově omezený abstinenční syndrom, ke kterému dochází během 24 hodin od poslední dávky. Abstinenční příznaky jsou tak závažné, že mohou způsobovat relaps. Patří mezi ně neklidná nálada, únava, fluktuace nebo nepřijemné sny, nespavost nebo nadměrná spavost, zvýšená chuť k jídlu, nebo psychomotorický neklid. Závislé osoby také pociťují podrážděnost, melancholii, úzkost a paranoii, mohou se objevovat sebevražděné myšlenky. Abstinenční syndrom zahrnuje dvě fáze, které mohou trvat 3 týdny a více. První fáze (tzv. crash) nastává během prvního týdne. Tato fáze se vyznačuje zvýšenou spavostí, ale s celkově horší kvalitou spánku a zvýšením chuti k jídlu. Během druhé fáze přetrvávají poruchy spánku i zvýšená chuť k jídlu, spolu s dalšími příznaky, které obvykle odezní do třetího týdne, na které však mohou přetrvávat i měsíce (Shoptaw et al., 2009).

7.3. Léčba závislosti

Po akutní fázi léčby vyfladuje okamžitě ukončení užívání. V současné době neexistuje žádná efektivní farmakoterapie pro úplnou léčbu závislosti. Používá se medikace pro stabilizaci neurotransmisí (Shoptaw et al., 2009; Stoops and Rush, 2014). Amineptin je účinný na potlačení úbytku energie, zvýšené chuti k jídlu a nadměrné spavosti (Srisurapanont et al., 1999). Slibné výsledky ukázala kombinace farmakoterapie, která byla lepší než léčba

placebem (Stoops and Rush, 2014). TAAR1 jako funkční regulátor dopaminového systému je potenciálním cílem pro vývoj jeho účinných agonistů pro pokrok při léčbě závislosti (Jing and Li, 2015). Potenciálně je účinné cvičení jako podpůrná procedura při léčbě závislosti. Vzhledem k tomu, že cvičení znamená flivotný styl, který zabráňuje široké škále duševních a tělesných zdravotních problémů, předepisování cvičení pro léčbu závislosti nese jen nízké riziko dalších problémů (Linke and Ussher, 2015).

8. Závěr

Amfetaminy mají své praktické uplatnění při léčbě ADHD a dalších chorob. Užívání amfetaminů vyvolává celou řadu účinků a jejich chronické nebo nadměrné užívání může vést k mnoha negativním změnám, které mohou vyvolat u uživatelů závislost. Tato práce nahlíží na dosavadní poznatky o mechanismu, kterým amfetaminy tyto účinky a změny vyvolávají. V současné době není schválena žádná účinná farmakoterapie pro léčbu závislosti na psychostimulantech. Mechanismus působení amfetaminů je velmi složitý proces zahrnující různé molekulární a buněčné komponenty a identifikace všech těchto cílových struktur, na které amfetaminy působí, je velmi důležitá pro další výzkum a vývoj medikamentů, které by cílily na tyto struktury, jako je tomu například u výše zmíněného TAAR1. Existuje mnoho neobjasněných aspektů této problematiky, jako je například přesná role CART peptidů v závislosti, identifikace jejich cílových složek (například receptor CART) a popis mechanismu jejich působení.

9. Seznam poufité literatury

- Alibhai, I. N., T. A. Green, J. A. Potashkin, and E. J. Nestler, 2007, Regulation of fosB and Delta fosB mRNA expression: In vivo and in vitro studies: *Brain Research*, v. 1143, p. 22-33.
- Barrot, M., J. D. A. Olivier, L. I. Perrotti, R. J. DiLeone, O. Berton, A. J. Eisch, S. Impey, D. R. Storm, R. L. Neve, J. C. Yin, V. Zachariou, and E. J. Nestler, 2002, CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 99, p. 11435-11440.
- Batchelor, M., and J. O. Schenk, 1998, Protein kinase A activity may kinetically upregulate the striatal transporter for dopamine: *Journal of Neuroscience*, v. 18, p. 10304-10309.
- Berke, J. D., R. F. Paletzki, G. J. Aronson, S. E. Hyman, and C. R. Gerfen, 1998, A complex program of striatal gene expression induced by dopaminergic stimulation: *Journal of Neuroscience*, v. 18, p. 5301-5310.
- *Berman, S. M., R. Kuczenski, J. T. McCracken, and E. D. London, 2009, Potential adverse effects of amphetamine treatment on brain and behavior: a review: *Molecular Psychiatry*, v. 14, p. 123-142.
- Bibb, J. A., J. S. Chen, J. R. Taylor, P. Svenningsson, A. Nishi, G. L. Snyder, Z. Yan, Z. K. Sagawa, C. C. Ouimet, A. C. Nairn, E. J. Nestler, and P. Greengard, 2001, Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5: *Nature*, v. 410, p. 376-380.
- Borowsky, B., N. Adham, K. A. Jones, R. Raddatz, R. Artymyshyn, K. L. Ogozalek, M. M. Durkin, P. P. Lakhani, J. A. Bonini, S. Pathirana, N. Boyle, X. S. Pu, E. Kouranova, H. Lichtblau, F. Y. Ochoa, T. A. Branchek, and C. Gerald, 2001, Trace amines: Identification of a family of mammalian G protein-coupled receptors: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, p. 8966-8971.
- *Bortolato, M., K. Chen, and J. C. Shih, 2008, Monoamine oxidase inactivation: From pathophysiology to therapeutics: *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 60, p. 1527-1533.
- Bradaia, A., G. Trube, H. Stalder, R. D. Norcross, L. Ozmen, J. G. Wettstein, A. Pinard, D. Buchy, M. Gassmann, M. C. Hoener, and B. Bettler, 2009, The selective antagonist EPPTB reveals TAAR1-mediated regulatory mechanisms in dopaminergic neurons of the mesolimbic system: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, p. 20081-20086.
- Bunzow, J. R., M. S. Sonders, S. Arttamangkul, L. M. Harrison, G. Zhang, D. I. Quigley, T. Darland, K. L. Suchland, S. Pasumamula, J. L. Kennedy, S. B. Olson, R. E. Magenis, S. G. Amara, and D. K. Grandy, 2001, Amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diethylamide, and metabolites of the catecholamine neurotransmitters are agonists of a rat trace amine receptor: *Molecular Pharmacology*, v. 60, p. 1181-1188.
- Carle, T. L., Y. N. Ohnishi, Y. H. Ohnishi, I. N. Alibhai, M. B. Wilkinson, A. Kumar, and E. J. Nestler, 2007, Proteasome-dependent and -independent mechanisms for FosB destabilization: identification of FosB degron domains and implications for Delta FosB stability: *European Journal of Neuroscience*, v. 25, p. 3009-3019.
- *Carlezon, W. A., R. S. Duman, and E. J. Nestler, 2005, The many faces of CREB: *Trends in Neurosciences*, v. 28, p. 436-445.
- Carvelli, L., J. A. Moron, K. M. Kahlig, J. V. Ferrer, N. Sen, J. D. Lechleiter, L. M. F. Leeb-Lundberg, G. Merrill, E. M. Lafer, L. M. Ballou, T. S. Shippenberg, J. A. Javitch, R. Z. Lin, and A. Galli, 2002, PI 3-kinase regulation of dopamine uptake: *Journal of Neurochemistry*, v. 81, p. 859-869.
- Chang, M. Y., S. H. Lee, J. H. Kim, K. H. Lee, Y. S. Kim, H. Son, and Y. S. Lee, 2001, Protein kinase C-mediated functional regulation of dopamine transporter is not achieved by direct phosphorylation of the dopamine transporter protein: *J Neurochem*, v. 77, p. 754-61.
- Chen, J. S., M. B. Kelz, B. T. Hope, Y. Nakabeppu, and E. J. Nestler, 1997, Chronic Fos-related antigens: Stable variants of Delta FosB induced in brain by chronic treatments: *Journal of Neuroscience*, v. 17, p. 4933-4941.

- Childs, E., and H. de Wit, 2009, Amphetamine-Induced Place Preference in Humans: *Biological Psychiatry*, v. 65, p. 900-904.
- Dallvechia-Adams, S., M. J. Kuhar, and Y. Smith, 2002, Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide projections in the ventral midbrain: Colocalization with gamma-aminobutyric acid, melanin-concentrating hormone, dynorphin, and synaptic interactions with dopamine neurons: *Journal of Comparative Neurology*, v. 448, p. 360-372.
- *de la Torre, R., M. Farre, M. Navarro, R. Pacifici, P. Zuccaro, and S. Pichini, 2004, Clinical pharmacokinetics of amphetamine and related substances - Monitoring in conventional and non-conventional matrices: *Clinical Pharmacokinetics*, v. 43, p. 157-185.
- Dominguez, G., A. Lakatos, and M. J. Kuhar, 2002, Characterization of the cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptide gene promoter and its activation by a cyclic AMP-dependent signaling pathway in GH3 cells: *Journal of Neurochemistry*, v. 80, p. 885-893.
- Douglass, J., A. A. McKinzie, and P. Couceyro, 1995, PCR DIFFERENTIAL DISPLAY IDENTIFIES A RAT-BRAIN MESSENGER-RNA THAT IS TRANSCRIPTIONALLY REGULATED BY COCAINE AND AMPHETAMINE: *Journal of Neuroscience*, v. 15, p. 2471-2481.
- *Eiden, L. E., M. K. H. Schafer, E. Weihe, and B. Schutz, 2004, The vesicular amine transporter family (SLC18): amine/proton antiporters required for vesicular accumulation and regulated exocytotic secretion of monoamines and acetylcholine: *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*, v. 447, p. 636-640.
- *Eiden, L. E., and E. Weihe, 2011, VMAT2: a dynamic regulator of brain monoaminergic neuronal function interacting with drugs of abuse: *Addiction Reviews*, v. 1216, p. 86-98.
- Erickson, J. D., M. K. H. Schafer, T. I. Bonner, L. E. Eiden, and E. Weihe, 1996, Distinct pharmacological properties and distribution in neurons and endocrine cells of two isoforms of the human vesicular monoamine transporter: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 93, p. 5166-5171.
- Floor, E., and L. H. Meng, 1996, Amphetamine releases dopamine from synaptic vesicles by dual mechanisms: *Neuroscience Letters*, v. 215, p. 53-56.
- Fon, E. A., E. N. Pothos, B. C. Sun, N. Killeen, D. Sulzer, and R. H. Edwards, 1997, Vesicular transport regulates monoamine storage and release but is not essential for amphetamine action: *Neuron*, v. 19, p. 1271-83.
- Geracitano, R., M. Federici, S. Prisco, G. Bernardi, and N. B. Mercuri, 2004, Inhibitory effects of trace amines on rat midbrain dopaminergic neurons: *Neuropharmacology*, v. 46, p. 807-814.
- Giambalvo, C. C. T., 2004, Mechanisms underlying the effects of amphetamine on particulate PKC activity: *Synapse*, v. 51, p. 128-139.
- Granás, C., J. Ferrer, C. J. Loland, J. A. Javitch, and U. Gether, 2003, N-terminal truncation of the dopamine transporter abolishes phorbol ester- and substance P receptor-stimulated phosphorylation without impairing transporter internalization: *Journal of Biological Chemistry*, v. 278, p. 4990-5000.
- Graybiel, A. M., R. Moratalla, and H. A. Robertson, 1990, AMPHETAMINE AND COCAINE INDUCE DRUG-SPECIFIC ACTIVATION OF THE C-FOS GENE IN STRIOSOME MATRIX COMPARTMENTS AND LIMBIC SUBDIVISIONS OF THE STRIATUM: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 87, p. 6912-6916.
- Han, D. D., and H. H. Gu, 2006, Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs: *BMC Pharmacol*, v. 6, p. 6.
- *Heal, D. J., S. L. Smith, J. Gosden, and D. J. Nutt, 2013, Amphetamine, past and present - a pharmacological and clinical perspective: *Journal of Psychopharmacology*, v. 27, p. 479-496.
- *Howell, L. L., and H. L. Kimmel, 2008, Monoamine transporters and psychostimulant addiction: *Biochemical Pharmacology*, v. 75, p. 196-217.
- Hurd, Y. L., and P. Fagergren, 2000, Human cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) mRNA is highly expressed in limbic- and sensory-related brain regions: *Journal of Comparative Neurology*, v. 425, p. 583-598.

- Impey, S., S. R. McCorkle, H. Cha-Molstad, J. M. Dwyer, G. S. Yochum, J. M. Boss, S. McWeeney, J. J. Dunn, G. Mandel, and R. H. Goodman, 2004, Defining the CREB regulon: A genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions: *Cell*, v. 119, p. 1041-1054.
- *Jing, L., and J. X. Li, 2015, Trace amine-associated receptor 1: A promising target for the treatment of psychostimulant addiction: *Eur J Pharmacol*.
- Jones, S. R., R. R. Gainetdinov, R. M. Wightman, and M. G. Caron, 1998, Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter: *Journal of Neuroscience*, v. 18, p. 1979-1986.
- Kahlig, K. M., F. Binda, H. Khoshbouei, R. D. Blakely, D. G. McMahon, J. A. Javitch, and A. Galli, 2005, Amphetamine induces dopamine efflux through a dopamine transporter channel: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, p. 3495-3500.
- Kantor, L., and M. E. Gnegy, 1998, Protein kinase C inhibitors block amphetamine-mediated dopamine release in rat striatal slices: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 284, p. 592-598.
- Kantor, L., G. H. K. Hewlett, Y. H. Park, S. M. Richardson-Burns, M. J. Mellon, and M. E. Gnegy, 2001, Protein kinase C and intracellular calcium are required for amphetamine-mediated dopamine release via the norepinephrine transporter in undifferentiated PC12 cells: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 297, p. 1016-1024.
- Kelz, M. B., J. S. Chen, W. A. Carlezon, K. Whisler, L. Gilden, A. M. Beckmann, C. Steffen, Y. J. Zhang, L. Marotti, D. W. Self, T. Tkatch, G. Baranauskas, D. J. Surmeier, R. L. Neve, R. S. Duman, M. R. Picciotto, and E. J. Nestler, 1999, Expression of the transcription factor Delta FosB in the brain controls sensitivity to cocaine: *Nature*, v. 401, p. 272-276.
- Khoshbouei, H., N. Sen, B. Guptaroy, L. Johnson, D. Lund, M. E. Gnegy, A. Galli, and J. A. Javitch, 2004, N-terminal phosphorylation of the dopamine transporter is required for amphetamine-induced efflux: *Plos Biology*, v. 2, p. 387-393.
- Khoshbouei, H., H. W. Wang, J. D. Lechleiter, J. A. Javitch, and A. Galli, 2003, Amphetamine-induced dopamine efflux - A voltage-sensitive and intracellular Na⁺-dependent mechanism: *Journal of Biological Chemistry*, v. 278, p. 12070-12077.
- Larson, E. B., D. L. Graham, R. R. Arzaga, N. Buzin, J. Webb, T. A. Green, C. E. Bass, R. L. Neve, E. F. Terwilliger, E. J. Nestler, and D. W. Self, 2011, Overexpression of CREB in the Nucleus Accumbens Shell Increases Cocaine Reinforcement in Self-Administering Rats: *Journal of Neuroscience*, v. 31, p. 16447-16457.
- *Ledonne, A., N. Berretta, A. Davoli, G. R. Rizzo, G. Bernardi, and N. B. Mercuri, 2011, Electrophysiological effects of trace amines on mesencephalic dopaminergic neurons: *Front Syst Neurosci*, v. 5, p. 56.
- Lindemann, L., M. Ebeling, N. A. Kratochwil, J. R. Bunzow, D. K. Grandy, and M. C. Hoener, 2005, Trace amine-associated receptors form structurally and functionally distinct subfamilies of novel G protein-coupled receptors: *Genomics*, v. 85, p. 372-385.
- Lindemann, L., C. A. Meyer, K. Jeanneau, A. Bradaia, L. Ozmen, H. Bluethmann, B. Bettler, J. G. Wettstein, E. Borroni, J. L. Moreau, and M. C. Hoener, 2008, Trace amine-associated receptor 1 modulates dopaminergic activity: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 324, p. 948-956.
- *Linke, S. E., and M. Ussher, 2015, Exercise-based treatments for substance use disorders: evidence, theory, and practicality: *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, v. 41, p. 7-15.
- Loder, M. K., and H. E. Melikian, 2003, The dopamine transporter constitutively internalizes and recycles in a protein kinase C-regulated manner in stably transfected PC12 cell lines: *Journal of Biological Chemistry*, v. 278, p. 22168-22174.
- Matthews, R. P., C. R. Guthrie, L. M. Wailes, X. Y. Zhao, A. R. Means, and G. S. McKnight, 1994, CALCIUM/CALMODULIN-DEPENDENT PROTEIN-KINASE TYPE-II AND TYPE-IV DIFFERENTIALLY REGULATE CREB-DEPENDENT GENE-EXPRESSION: *Molecular and Cellular Biology*, v. 14, p. 6107-6116.
- McClung, C. A., and E. J. Nestler, 2003, Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and Delta FosB: *Nature Neuroscience*, v. 6, p. 1208-1215.

- Meffert, M. K., J. M. Chang, B. J. Wiltgen, M. S. Fanselow, and D. Baltimore, 2003, NF-kappa B functions in synaptic signaling and behavior: *Nature Neuroscience*, v. 6, p. 1072-1078.
- Melikian, H. E., and K. M. Buckley, 1999, Membrane trafficking regulates the activity of the human dopamine transporter: *Journal of Neuroscience*, v. 19, p. 7699-7710.
- *Miller, G. M., 2011, The emerging role of trace amine-associated receptor 1 in the functional regulation of monoamine transporters and dopaminergic activity: *Journal of Neurochemistry*, v. 116, p. 164-176.
- Miller, G. M., C. D. Verrico, A. Jassen, M. Konar, H. Yang, H. Panas, M. Bahn, R. Johnson, and B. K. Madras, 2005, Primate trace amine receptor 1 modulation by the dopamine transporter: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 313, p. 983-994.
- Mosharov, E. V., L. W. Gong, B. Khanna, D. Sulzer, and M. Lindau, 2003, Intracellular patch electrochemistry: Regulation of cytosolic catecholamines in chromaffin cells: *Journal of Neuroscience*, v. 23, p. 5835-5845.
- *Nestler, E. J., 2001, Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction: *Nature Reviews Neuroscience*, v. 2, p. 119-128.
- *Nestler, E. J., 2008, Transcriptional mechanisms of addiction: role of Delta FosB: *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, v. 363, p. 3245-3255.
- *Nestler, E. J., 2013, Cellular basis of memory for addiction: *Dialogues Clin Neurosci*, v. 15, p. 431-43.
- Peter, D., J. Jimenez, Y. J. Liu, J. Kim, and R. H. Edwards, 1994, THE CHROMAFFIN GRANULE AND SYNAPTIC VESICLE AMINE TRANSPORTERS DIFFER IN SUBSTRATE RECOGNITION AND SENSITIVITY TO INHIBITORS: *Journal of Biological Chemistry*, v. 269, p. 7231-7237.
- Renthal, W., T. L. Carle, I. Maze, H. E. Covington, H. T. Truong, I. Alibhai, A. Kumar, R. L. Montgomery, E. N. Olson, and E. J. Nestler, 2008, Delta FosB mediates epigenetic desensitization of the c-fos gene after chronic amphetamine exposure: *Journal of Neuroscience*, v. 28, p. 7344-7349.
- *Robison, A. J., and E. J. Nestler, 2011, Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction: *Nature Reviews Neuroscience*, v. 12, p. 623-637.
- *Ruffle, J. K., 2014, Molecular neurobiology of addiction: what's all the (Delta)FosB about?: *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, v. 40, p. 428-437.
- Russo, S. J., M. B. Wilkinson, M. S. Mazei-Robison, D. M. Dietz, I. Maze, V. Krishnan, W. Renthal, A. Graham, S. G. Birnbaum, T. A. Green, B. Robison, A. Lesselyong, L. I. Perrotti, C. A. Bolanos, A. Kumar, M. S. Clark, J. F. Neumaier, R. L. Neve, A. L. Bhakar, P. A. Barker, and E. J. Nestler, 2009, Nuclear Factor kappa B Signaling Regulates Neuronal Morphology and Cocaine Reward: *Journal of Neuroscience*, v. 29, p. 3529-3537.
- Schmitz, Y., C. J. Lee, C. Schmauss, F. Gonon, and D. Sulzer, 2001, Amphetamine distorts stimulation-dependent dopamine overflow: Effects on D-2 autoreceptors, transporters, and synaptic vesicle stores: *Journal of Neuroscience*, v. 21, p. 5916-5924.
- *Shoptaw, S. J., U. Kao, K. Heinzerling, and W. Ling, 2009, Treatment for amphetamine withdrawal: *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Sitte, H. H., S. Huck, H. Reither, S. Boehm, E. A. Singer, and C. Piffl, 1998, Carrier-mediated release, transport rates, and charge transfer induced by amphetamine, tyramine, and dopamine in mammalian cells transfected with the human dopamine transporter: *Journal of Neurochemistry*, v. 71, p. 1289-1297.
- Smith, Y., J. Kieval, P. R. Couceyro, and M. J. Kuhar, 1999, CART peptide-immunoreactive neurones in the nucleus accumbens in monkeys: Ultrastructural analysis, colocalization studies, and synaptic interactions with dopaminergic afferents: *Journal of Comparative Neurology*, v. 407, p. 491-511.
- Smith, Y., E. O. Koylu, P. Couceyro, and M. J. Kuhar, 1997, Ultrastructural localization of CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) peptides in the nucleus accumbens of monkeys: *Synapse*, v. 27, p. 90-94.
- *Spiller, H. A., H. L. Hays, and A. Aleguas, 2013, Overdose of Drugs for Attention-Deficit Hyperactivity Disorder: Clinical Presentation, Mechanisms of Toxicity, and Management: *Cns Drugs*, v. 27, p. 531-543.

- Spitzmaul, G. F., M. D. Esandi, and C. Bouzat, 1999, Amphetamine acts as a channel blocker of the acetylcholine receptor: *Neuroreport*, v. 10, p. 2175-2181.
- Srisurapanont, M., N. Jarusuraisin, and J. Jittiwutikan, 1999, Amphetamine withdrawal: II. A placebo-controlled, randomised, double-blind study of amineptine treatment: *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry*, v. 33, p. 94-98.
- *Steiner, H., and C. R. Gerfen, 1998, Role of dynorphin and enkephalin in the regulation of striatal output pathways and behavior: *Experimental Brain Research*, v. 123, p. 60-76.
- *Steiner, H., and V. Van Waes, 2013, Addiction-related gene regulation: Risks of exposure to cognitive enhancers vs. other psychostimulants: *Progress in Neurobiology*, v. 100, p. 60-80.
- *Stoops, W. W., and C. R. Rush, 2014, Combination pharmacotherapies for stimulant use disorder: a review of clinical findings and recommendations for future research: *Expert Review of Clinical Pharmacology*, v. 7, p. 363-374.
- Sulzer, D., T. K. Chen, Y. Y. Lau, H. Kristensen, S. Rayport, and A. Ewing, 1995, AMPHETAMINE REDISTRIBUTES DOPAMINE FROM SYNAPTIC VESICLES TO THE CYTOSOL AND PROMOTES REVERSE TRANSPORT: *Journal of Neuroscience*, v. 15, p. 4102-4108.
- Sulzer, D., N. T. Maidment, and S. Rayport, 1993, AMPHETAMINE AND OTHER WEAK BASES ACT TO PROMOTE REVERSE TRANSPORT OF DOPAMINE IN VENTRAL MIDBRAIN NEURONS: *Journal of Neurochemistry*, v. 60, p. 527-535.
- Sulzer, D., and S. Rayport, 1990, AMPHETAMINE AND OTHER PSYCHOSTIMULANTS REDUCE PH GRADIENTS IN MIDBRAIN DOPAMINERGIC-NEURONS AND CHROMAFFIN GRANULES - A MECHANISM OF ACTION: *Neuron*, v. 5, p. 797-808.
- *Sulzer, D., M. S. Sonders, N. W. Poulsen, and A. Galli, 2005, Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: A review: *Progress in Neurobiology*, v. 75, p. 406-433.
- Tang, W. X., W. H. Fasulo, D. C. Mash, and S. E. Hemby, 2003, Molecular profiling of midbrain dopamine regions in cocaine overdose victims: *Journal of Neurochemistry*, v. 85, p. 911-924.
- Tulloch, S. J., Y. X. Zhang, A. McLean, and K. N. Wolf, 2002, SLI381 (Adderall XR), a two-component, ExtendedRelease formulation of mixed amphetamine salts: Bioavailability of three test formulations and comparison of fasted, fed, and sprinkled administration: *Pharmacotherapy*, v. 22, p. 1405-1415.
- Ulery, P. G., and E. J. Nestler, 2007, Regulation of Delta FosB transcriptional activity by Ser27 phosphorylation: *European Journal of Neuroscience*, v. 25, p. 224-230.
- Underhill, S. M., D. S. Wheeler, M. H. Li, S. D. Watts, S. L. Ingram, and S. G. Amara, 2014, Amphetamine Modulates Excitatory Neurotransmission through Endocytosis of the Glutamate Transporter EAAT3 in Dopamine Neurons: *Neuron*, v. 83, p. 404-416.
- *Vicentic, A., and D. C. Jones, 2007, The CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) system in appetite and drug addiction: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 320, p. 499-506.
- Wu, X. L., and C. T. McMurray, 2001, Calmodulin kinase II attenuation of gene transcription by preventing cAMP response element-binding protein (CREB) dimerization and binding of the CREB-binding protein: *Journal of Biological Chemistry*, v. 276, p. 1735-1741.
- Xie, Z., S. V. Westmoreland, M. E. Bahn, G.-L. Chen, H. Yang, E. J. Vallender, W.-D. Yao, B. K. Madras, and G. M. Miller, 2007, Rhesus monkey trace amine-associated receptor 1 signaling: Enhancement by monoamine transporters and attenuation by the D2 autoreceptor in vitro: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 321, p. 116-127.
- Xie, Z. H., and G. M. Miller, 2007, Trace amine-associated receptor 1 is a modulator of the dopamine transporter: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 321, p. 128-136.
- Xie, Z. H., and G. M. Miller, 2008, beta-phenylethylamine alters monoamine transporter function via trace amine-associated receptor 1: Implication for modulatory roles of trace amines in brain: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 325, p. 617-628.
- Xie, Z. H., and G. M. Miller, 2009, A Receptor Mechanism for Methamphetamine Action in Dopamine Transporter Regulation in Brain: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 330, p. 316-325.
- Xie, Z. H., S. V. Westmoreland, and G. M. Miller, 2008, Modulation of monoamine transporters by common biogenic amines via trace amine-associated receptor 1 and monoamine autoreceptors

- in human embryonic kidney 293 cells and brain synaptosomes: Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 325, p. 629-640.
- Xing, J., D. D. Ginty, and M. E. Greenberg, 1996, Coupling of the RAS-MAPK pathway to gene activation by RSK2, a growth factor-regulated CREB kinase: Science, v. 273, p. 959-963.
- Zhu, H. J., D. I. Appel, D. Grundemann, and J. S. Markowitz, 2010, Interaction of organic cation transporter 3 (SLC22A3) and amphetamine: Journal of Neurochemistry, v. 114, p. 142-149.

*sekundární citace

Internetové zdroje:

- [I] Stav drogové problematiky v Evropě [online]. 2009. [cit. 2016-08-16]. ISBN 978-92-9168-379-6.
Dostupné z: <http://www.drogy.net/zpravy-a-statistiky/stav-drogove-problematiky-v-evrope-2010-02-07.html>
- [II] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. [online]. 16.8.2016 [cit. 2016-08-16].
Dostupné z: <http://www.emcdda.europa.eu/publications/drug-profiles/amphetamine>
- [III] DrugBank. [online]. 17.8.2016 [cit. 2016-08-17].
Dostupné z: <http://www.drugbank.ca/>
- [IV] Orientation of proteins in membranes. [online]. 17.8.2016 [cit. 2016-08-17]. Dostupné z: <http://opm.phar.umich.edu/protein.php?pdbid=4m48>
- [V] Wikipedia The Free Encyclopedia. [online]. 17.8.2016 [cit. 2016-08-17].
Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/CREB>