

Eksperimentelle studier i forsøksdyr. Hva vet vi om langvarige effekter i avkom eksponert for metadon eller buprenorfin i fosterlivet? Finnes det relevante epigenetiske studier?

Report I – Consensus Conference OMT and pregnancy

Report I – Consensus Conference OMT and pregnancy: Eksperimentelle studier i forsøksdyr. Hva vet vi om langvarige effekter i avkom eksponert for metadon eller buprenorfin i fosterlivet? Finnes det relevante epigenetiske studier?

Utgitt: 06/2017

Publikasjonsnummer:

Utgitt av: Helsedirektoratet
Kontakt: Avdeling psykisk helsevern og rus
Postadresse: Pb. 7000 St Olavs plass, 0130 Oslo
Besøksadresse: Universitetsgata 2, Oslo

Tlf.: 810 20 050
Faks: 24 16 30 01
www.helsedirektoratet.no

Forfattere: Jannike Mørch Andersen, seniorforsker Oslo
Universitetssykehus, Oslo, Norge

FORORD

The Norwegian Directorate of Health has commissioned in all 6 different reviews/reports to be made for the «Norwegian Consensus Conference on Opioid Maintenance Treatment in Pregnancy», which is being organised in Oslo 13.-14. June 2017.

This report is the first in the series and will be presented by the author on June 14. 2017 at Holmenkollen Park Hotel.

INNHold

FORORD	2
INNHold	3
ORDFORKLARINGER	5
SUMMARY - ENGLISH	6
1. MANDAT FRA HELSEDIREKTORATET	8
2. INNLEDNING	9
3. LITTERATURSØK	11
4. RESULTATER	13
4.1 Akutte fødselsutfall i forsøksdyr	13
4.1.1 Død, fødselsvekt, hjernevekt	13
4.1.2 Abstinenser	14
4.1.3 «Sudden Infant Death Syndrome»	16
4.1.4 Teratogene effekter	16
4.2 Langvarige effekter i forsøksdyr	16
4.2.1 Effekt på kognitive funksjoner	16
4.2.2 Effekt på hjernens belønningssystem	18
4.2.3 Angst- og depresjonsliknende effekter	19

INNHOOLD

4.2.4	Smerte	20
4.2.5	Øyeaktivitet/VEPs	21
4.3	Cellulære og molekulære endringer	21
4.4	Epigenetiske studier	22
5.	OPPSUMMERING	23
6.	TAKK	25
7.	REFERANSER	26

ORDFORKLARINGER

LAR	legemiddelassistert rehabilitering
DOR	δ -opioidreseptor
MOR	μ -opioidreseptor
KOR	κ -opioidreseptor
GD	fosterdag (gestation day)
PND	dag etter fødsel (postnatal day)

SUMMARY - ENGLISH

Background: Studies of children exposed to opioids during pregnancy are important to explore long-lasting consequences of opioid replacement therapy. However, human studies take years to complete and are often encumbered with numerous confounding factors. Moreover, because of the ethical aspects, experimental studies comparing the effects of different opioids, different doses, and exposure in different trimesters cannot be performed. Experimental animal studies are therefore a necessary and valuable tool to add new information in this field.

Aim: To review all experimental animal studies concerning long-lasting effects in offspring exposed prenatally to methadone or buprenorphine, as well as the epigenetic studies in this field. Also acute neonatal outcomes are described since these might be associated with later effects.

Method: A systematic literature review was performed in Medline, Embase, Web of Science, Cochrane and Epistemonikos databases. The search captured 1715 scientific publications. Of these, only 15 papers have studied long-term effects in off-spring prenatally exposed to methadone or buprenorphine.

Results: Pups prenatally exposed to methadone show reduced birth and brain weight, increased perinatal death, and abstinences that seem to have a prolonged nature. Similar effects are seen after high doses of buprenorphine. No teratogenic effects have been reported for any of the drugs.

Regarding long-lasting effects, defined as effects after the weaning period, the knowledge is limited because of few publications.

- 3 articles have reported impaired learning, memory or novelty preference in young and adult rats after prenatal exposure to methadone or buprenorphine, while 3 articles show no effect on cognitive functioning.
- 4 studies have reported increased sensitivity for drug exposure in adult rats prenatally exposed to methadone or buprenorphine.
- 3 studies show increased anxiety and depression in young and adult rats after prenatal exposure to methadone or buprenorphine. Some of the effects might be explained by a change in the mother-pup interaction.

SUMMARY - ENGLISH

- 5 studies have reported change in pain perception or analgesic effects in young and adult rats prenatally exposed to methadone or buprenorphine.

Discussion: Taken together, experimental animal studies show that prenatal exposure to methadone or buprenorphine might induce long-lasting changes in behaviour related to cognitive functioning, reward, anxiety and depression, and pain perception. A number of different mechanisms have been described to explain the behavioral findings, including delayed neuronal development, changes in neurotransmitter signaling and receptor functionality, and DNA and RNA modifications. However, preclinical data concerning the long-term consequences of buprenorphine compared to methadone exposure, the specific effect of high versus low doses of buprenorphine, and the effect of sustained opioid treatment compared to detoxification from all opioid use are as of yet incomplete. Before conclusions can be drawn, more research is needed.

1. MANDAT FRA HELSEDIREKTORATET

Mandatet fra Helsedirektoratet var å lage en oppdatert kunnskapsoppsummering over alle eksperimentelle studier i forsøksdyr som har undersøkt langvarige effekter i avkom eksponert for metadon eller buprenorfin i fosterlivet. Fordi antall studier på dette forskningsfeltet er lite var det også ønskelig å inkludere studier av akutte fødselsutfall, samt studier med andre opioider, hovedsakelig morfin. Det ble i tillegg bedt om at oppsummeringen skulle omfatte relevante epigenetiske studier.

2. INNLEDNING

Studier av barn født av mødre som har vært i LAR-behandling under graviditeten er viktige for å få kunnskap om langvarige effekter etter prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin. Humane studier tar imidlertid mange år å gjennomføre og det kan ofte være vanskelig å skille den direkte effekten av et stoff fra genetiske, sosiale og miljømessige faktorer. På grunn av fare for skadelige effekter er det ikke etisk forsvarlig å utføre kontrollerte, eksperimentelle studier i gravide. Dette gjør det vanskelig å sammenlikne virkningen av ulike stoffer, utfallet av ulike doser og om eksponering i ulike deler av svangerskapet har betydning for senere effekter.

Metadon eller buprenorfin som den gravide eksponeres for vil krysse placenta og distribueres i fosteret. Fosterhjernen er spesielt sårbar fordi blod-hjerne barrieren ennå ikke er fullt utviklet. I forbindelse med utviklingen av nervesystemet spiller opioidreseptorene en viktig rolle. μ -opioidreseptoren (MOR) og κ -opioidreseptoren (KOR) uttrykkes i hjernen allerede på fosterstadiet, mens δ -opioidreseptoren (DOR) uttrykkes tidlig i den postnatale perioden (Leslie et al 1982).

Metadon som benyttes i LAR-behandlingen er en rasemisk blanding hvor den ene isomeren binder selektivt til MOR og virker som en full agonist, mens den andre isomeren virker som en antagonist på NMDA-reseptoren. I motsetning til metadon er buprenorfin en delvis agonist på MOR. Buprenorfin virker i tillegg som en antagonist på KOR og DOR. Fordi metadon og buprenorfin har ulike virkningsmekanismer vil de også ha ulike biologiske effekter og dermed kunne påvirke utviklingen forskjellig.

Eksperimentelle studier i forsøksdyr er en verdifull tilnærming for å få mer kunnskap om hvordan prenatal eksponering for opioider påvirker avkommet. I slike studier kan det kontrolleres for miljømessige og genetiske faktorer som ofte gjør det vanskelig å tolke humane studier, noe som betyr at man kan studere den direkte sammenhengen mellom stoffeksponering og effekt. De aller fleste arbeidene hvor man har undersøkt langvarige effekter i avkom etter prenatal opioideksponering er gjort i rotter, mens noen få studier har brukt mus, marsvin eller ape. En fordel med dyreeksperimentelle studier er at forsøksdyr har mye kortere generasjonstid sammenliknet med mennesker. Rotter og mus anses som voksne rundt 6-8 ukers alder. Dette gjør at verdifull kunnskap kan frembringes relativt raskt. Det er også mulig å studere cellulære og molekylære mekanismer. Ettersom både rotter og mus benyttes i utstrakt grad innen preklinisk forskning er kunnskapen om disse dyrenes egenskaper godt kjent, noe som er en forutsetning ved ekstrapolering av data mellom ulike arter. En vesentlig forskjell som er verdt å merke seg i forbindelse med prenatal eksponering er at 3. trimester hos mennesker tilsvarer de første 10-14 dagene etter fødsel i rotter/mus. Det betyr at dersom en ønsker å studere betydningen av eksponering sent i graviditeten må dyrene gis

testsubstans også de første 1.5-2 ukene etter fødselen. En annen viktig forskjell mellom forsøksdyr og mennesker som er relevant for denne kunnskapsoppsummeringen er den raske metabolismen av metadon og buprenorfin i gnagere ($t_{1/2}=2-2.5$ timer) (Andersen et al 2011, Ohtani et al 1994). Dette innebærer at dersom stoffene gis én gang om dagen vil dyrene over tid gjennomgå gjentatte perioder med varierende høy og lav stoffkonsentrasjon i kroppen, noe som er blitt hevdet å være mer skadelig sammenliknet med stabile konsentrasjoner (Hutchings et al 1976, 1992, Lichtblau and Sparber 1981). For å eksponere dyrene på en måte som er sammenliknbar med substitusjonsbehandlingen av mennesker, dvs. opprettholde jevn blodkonsentrasjon av metadon eller buprenorfin over tid, benyttes det derfor ofte en osmotisk minipumpe som legges under huden til dyret.

3. LITTERATURSØK

Denne kunnskapsoppsummeringen er basert på forskningen som foreligger på dette feltet fram til mai 2017. I desember 2016 ble det, i samarbeid med biblioteket på Folkehelseinstituttet, utført et omfattende og systematisk litteratursøk. Dette søket ble satt opp med følgende søkekriterier:

Spørsmålet som litteratursøket er ment å besvare	Spørsmålet i PICO format				Kjente relevante studier
	Populasjon	Intervensjon	Sammenlikning	Utfall	
Dyrestudier - Gravide og opioider	Gravide Svangerskap	Opioider, inkl. Buprenorphine Methadone Morphine Heroin Oxycodone Dihydromorphine Ethylmorphine Hydromorphone Oxymorphone Thebaine Naloxone Naltrexone Levacetylmethadol		Ultrasonic vocalization, locomotor activity, (social) behavior, cognitive function, memory, learning, attention, anxiety, weight, sleep, developmental problem, developmental disorder, impairment	

Det ble søkt i følgende databaser: Medline (947 treff), Embase (1008 treff), Web of Science (660 treff), Cochrane Database of Systematic Reviews (27 treff) og Epistemonikos (2 treff).

Etter sletting av dubletter omfattet søket 1715 artikler. Tittlene på alle treffene ble gjennomgått, og omtrent 300 abstrakt/artikler ble helt eller delvis lest. Utvalgskriteriene for arbeidene som er tatt med i denne oppsummeringen var at de omhandlet langvarige effekter og/eller akutte fødselsutfall i avkom fra mødre som var blitt eksponert for metadon, buprenorfin, morfin, heroin, oksykodon eller levacetylmethadol (LAAM) før parring og/eller under graviditeten og/eller under ammeperioden (opptil 3 uker etter fødsel) enten en gang, gjentatte ganger eller kontinuerlig. Også studier hvor avkommet var blitt eksponert direkte (ikke via mor) i perioden etter fødsel ble tatt med. Alle studiene som oppfylte utvalgskriteriene og omhandlet metadon eller buprenorfin er inkludert. I følge mandatet fra Helsedirektoratet var det i tillegg til studier med metadon og buprenorfin, også

ønskelig å inkludere arbeider med morfin og andre opioider. I denne sammenheng må det bemerkes at resultater fra studier med andre opioider ikke uten videre kan overføres til også å gjelde metadon og buprenorfin. Dette fordi forskjellige opioider distribueres ulikt i kroppen, har ulik halveringstid (farmakokinetikk) og ulik reseptoraffinitet/reseptorspesifisitet/reseptorselektivitet (farmakodynamikk). For studier som oppfylte utvalgskriteriene, men omhandlet andre opioider enn metadon og buprenorfin ble det derfor gjort et representativt utvalg for de ulike utfallene som beskrives.

I tillegg til hovedsøket utført i desember 2016 ble det gjort et forenklet søk for å dekke perioden januar 2017 til mai 2017. Det ble også gjort flere ikke-systematiske søk for å kryss-sjekke funnene, samt et ikke-systematisk søk på epigenetiske studier.

4. RESULTATER

4.1 Akutte fødselsutfall i forsøksdyr

Akutte fødselsutfall er i denne oppsummeringen definert som effekter i perioden før rotter/mus avannes fra mor ved 3-4 ukers alder. Når det gjelder beskrivelsen av abstinenser er det imidlertid også inkludert studier som har undersøkt dette på senere tidspunkter.

4.1.1 Død, fødselsvekt, hjernevekt

Hovedfunn:

- Metadon og høy dose buprenorfin fører til økt pre- og perinatal død.
- Metadon fører til redusert fødselsvekt. Noe av denne reduksjonen kan trolig tilskrives mødrenes reduserte matinntak.
- Buprenorfin har liten effekt på fødselsvekten.
- Metadon fører til redusert hjernevekt.

Enkelte har vist at metadon- eller buprenorfineksponering under graviditeten ikke i vesentlig grad endrer kullstørrelsen, kjønnsfordelingen til avkommet eller perinatal død (Field et al 1977, Hutchings et al 1995). Mange rapporterer imidlertid om reduksjon i antall avkom, spesielt antall hanner (Kunko et al 1996, Robinson and Wallace 2001), og økt dødelighet etter eksponering for metadon (2.5-20 mg/kg/dag) eller en høy buprenorfindose (3 mg/kg/dag) gjennom hele eller siste del av graviditeten (Barr et al 1998, Buchenauer et al 1974, Chiang et al 2010, Hutchings et al 1976, 1996).

McLaughlin og kolleger (1978) har rapportert at pre- og/eller postnatal metadoneksponering (5 mg/kg/dag) førte til lavere fødselsvekt, samt redusert vekt av mange organer. Tilsvarende har Hutchings et al (1979b) og Hein et al (1988) rapportert om noe lavere fødselsvekt i avkom fra hhv rotter og aper

eksponert for metadon i fosterlivet (5-13 mg/kg/dag). I rottene var denne forskjellen normalisert ved 3 ukers alder. Chandler et al (1975) har vist at sondeforing med metadon (25 mg/kg/dag) førte til redusert fostervekst, mens Kunko og kolleger (1996) rapporterte om det samme etter eksponering ved bruk av pumpe (9 mg/kg/dag). Noe av reduksjonen som observeres i fødselsvekt hos avkommet kan trolig tilskrives svekket ernæringsstatus hos mor som følge av redusert matinntak, og ikke en direkte effekt av metadon (Seidler et al 1982). Det er også studier som viser at metadon (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) ikke påvirker fødselsvekten til avkommet (Chiang et al 2010). Prenatal eksponering for buprenorfin (0.3-3 mg/kg/dag) gjennom hele eller deler av fosterlivet synes å ha relativt liten effekt på fødselsvekten (Chiang et al 2010, Hutchings et al 1995, 1996, Robinson and Wallace 2001).

Zagon og McLaughlin har i flere studier vist at eksponering for metadon (5 mg/kg/dag) gjennom graviditeten og ammeperioden førte til redusert hjernevekt hos avkommet, målt både ved 10 og 21 dagers alder (Zagon and McLaughlin 1977a, 1977b, 1977c, 1978). Også Field et al (1977) fant at avkom fra mødre som hadde fått metadon i drikkevannet under graviditeten hadde lavere hjernevekt da de ble født.

4.1.2 Abstinenser

Hovedfunn:

- Mange studier viser symptomer på abstinenser i avkom prenatalt eksponert for metadon. Abstinensene er til dels langvarige.
- Abstinenser etter buprenorfineksponering er lite studert, men synes å være mildere sammenliknet med metadon.
- Det er vanskelig å si noe om sammenhengen mellom eksponeringsgrad og grad av abstinenser.

Opioideksponering av gravide forsøksdyr fører til abstinenssymptomer i avkommet. I forsøksdyr benyttes hyperaktivitet, endring i ultrasonisk vokalisering, hypotermi og redusert vektøkning som mål på abstinenser.

Barr og kolleger (1998) har vist at rotter eksponert for metadon (9-14 mg/kg/dag, GD16-PND7) var mer aktive og vokaliserte mer sammenliknet med kontrolldyr da de ble injisert med naltrekson 7 dager etter fødsel. Tilsvarende har Robinson og Wallace (2001) rapportert om naltreksoninduserte abstinenser, bl.a. målt som hyperaktivitet og vokalisering, i 1 dag gamle rotter prenatalt eksponert for buprenorfin (0.3, 1 og 3 mg/kg/dag, GD7-22).

Flere studier viser at abstinensene vedvarer over tid. Det er funnet endringer i hvile-aktivitetssyklusen og en forhøyet respons på skremmende stimuli («startle response») i 17 og 22 dager gamle rotter som var blitt eksponert prenatalt med daglige injeksjoner av metadon (10-15 mg/kg, GD8-22) (Hutchings et al 1979a). Tilsvarende funn ble rapportert i 3 uker gamle rotter eksponert med en osmotisk minipumpe (10-15 mg/kg/dag, GD8-22) (Hutchings et al 1992, 1993), mens Zagon og McLaughlin (1981b) viste «head-shakes» og «wet-dog shakes» som ble forsterket etter naloksoneksponering i opptil 120 dager gamle rotter eksponert for metadon gjennom fosterlivet og/eller ammeperioden (5 mg/kg/dag).

Robinson og Wallace (2001) har rapportert at eksponering for buprenorfin (0.3, 1.0, og 3.0 mg/kg/dag, GD8-22) førte til abstinenser i 1 dag gamle avkom, og at den laveste dosen ga kraftigst effekt. Sammenliknet med metadon ser det imidlertid ut som om buprenorfin er mindre toksisk (Hutchings et al 1995). Det ble heller ikke vist forandringer i hvile-aktivitetssyklusen til rotter ved 22 eller 30 dagers alder etter prenatal buprenorfineksponering (Hutchings et al 1996). I marsvin er det rapportert om økt aktivitet i 3 dager gamle avkom eksponert for buprenorfin (0.1 mg/kg/dag) i siste halvdel av fosterlivet, mens eldre dyr ikke var forskjellig fra kontrolldyr (Wallisch et al 2010).

I en studie av Freeman (1980) ble det funnet at en høy dose metadon (16 mg/kg/dag, GD8-22) førte til redusert aktivitet i 28 dager gamle rotter sammenliknet med kontrolldyr og dyr som hadde fått en lav dose (4 mg/kg). Andre studier har også rapportert om redusert aktivitet i unge rotter (21-28 dager gamle) som endret seg til hyperaktivitet da dyrene ble eldre (45-65 dager gamle) (Zagon et al 1979a, Grove et al 1979). Disse funnene forklares med forsinket motorisk utvikling etter metadoneksponering, og relateres ikke til abstinenser.

I tillegg til studiene beskrevet over assosieres også hypotermi og redusert vektøkning i dyr prenatalt eksponert for metadon (5 mg/kg/dag) med langvarige abstinenser (Thompson and Zagon 1981, Thompson et al 1979, Zagon and McLaughlin 1977a, 1981b).

Samlet viser disse resultatene at prenatal eksponering for metadon fører til en langvarig tilstand av hypereksitabilitet i nervesystemet til rotter, liknende det som sees i barn født av mødre i LAR. Abstinenser etter prenatal eksponering for buprenorfin er mindre studert sammenliknet med metadon, og ser ut til å gi mildere symptomer hos avkommet. Det er vanskelig, ut fra disse studiene, å si noe om sammenhengen mellom eksponeringsdose/eksponeringsvarighet og grad av abstinens. Det er imidlertid vist, som i humane studier, at høyest dose/lengst eksponeringsvarighet ikke nødvendigvis fører til kraftigst effekt (Robinson and Wallace 2001, Van Wagener et al 1980).

4.1.3 «Sudden Infant Death Syndrome»

Forstyrrelser i respirasjonen er blitt fremlagt som årsak til «Sudden Infant Death Syndrome» (SIDS). Wallisch et al (2010) har vist at buprenorfineksponering (0.1 mg/kg/dag) av marsvin i siste halvdel av graviditeten førte til svekket respirasjon hos avkommet opp til 14 dager etter fødsel. Andre studier med marsvin har funnet samme effekt den første uken etter fødsel etter tilsvarende eksponering for metadon (12 mg/kg/dag) eller morfin (15 mg/kg/dag) (Nettleton et al 2008).

4.1.4 Teratogene effekter

Det er ikke funnet studier som viser at prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin fører til teratogene effekter, dvs. fysiske misdannelser, i rotter eller mus.

4.2 Langvarige effekter i forsøksdyr

I denne oppsummeringen er langvarige effekter definert som atferdsendringer i avkommet etter at det er avvent fra moren. I rotter og mus vil det si etter 3-4 ukers alder.

4.2.1 Effekt på kognitive funksjoner

Hovedfunn:

- 3 artikler har rapportert svekket læring, hukommelse eller nyhetspreferanse i unge og voksne rotter etter prenatal eksponering for metadon eller en høy dose buprenorfin.
- 3 artikler finner ingen effekt på kognitiv funksjonsevne hos rotter.

Van Wagoner og medarbeidere (1980) viste i en tidlig studie at rotter som var blitt eksponert for metadon (5 mg/kg/dag) enten i fosterlivet eller i ammeperioden hadde svekket læringsevne sammenliknet med kontrolldyr da de ble testet i en diskriminasjonstest ved 150 dagers alder. Dyr som hadde vært eksponert i både fosterlivet og ammeperioden var ikke forskjellig fra kontrolldyrene.

Også 120 dager gamle hunnrotter eksponert for metadon gjennom fosterlivet og/eller ammeperioden (5 mg/kg/dag, GD1-PND21) viste svekket utførelse i to ulike tester som brukes for å undersøke læring («light-dark discrimination» og «active avoidance») (Zagon et al 1979b).

I sin studie fant Chen et al (2015) at både hann- og hunnrotter som var blitt eksponert for metadon (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) eller buprenorfin (3 mg/kg/dag, GD3-20) viste redusert nyhetspreferanse ved 6

ukers alder, noe som indikerer svekket evne til å gjenkjenne forandringer i miljøet. Liknende resultater ble også funnet med morfin (4 mg/kg, 2x/dag, GD3-20).

Chiang og kolleger (2015) fant imidlertid ingen effekt på hverken læring eller romlig hukommelse i voksne hannrotter som hadde vært utsatt for den samme metadoneksponeringen som dyrene i studien til Chen (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20). I overensstemmelse med atferdsfunnene ble det ikke vist noen forskjell i LTP («long-term potentiation») eller LTD («long-term depression»), målt i skiver fra hippokampus.

Heller ikke Hutchings og kolleger (1979b) avdekket noen endringer i læring da de testet voksne rotter som var blitt eksponert for metadon de 2 siste ukene av fosterlivet (10 mg/kg/dag, GD8-22) i flere tester som benytter ulike former for belønning og straff («operant tasks»).

For buprenorfin ble det ikke funnet noen endring i romlig hukommelse, målt med Morris water maze, i 21 dager gamle rotter som var blitt eksponert i de to siste ukene av fosterlivet (0.3 og 1 mg/kg/dag, GD7-21) (Hung et al 2013).

Antall studier som har undersøkt kognitive effekter etter prenatal morfineksponeering er langt større enn antall arbeider med metadon og buprenorfin. Mange av disse studiene viser at morfin har en negativ effekt når læring og hukommelse testes i unge og voksne avkom (Moghadam et al 2013, Nasiraei-Moghadam et al 2013, Niu et al 2009, Slamberova et al 2001). Noen av morfinstudiene er spesielt interessante sett i sammenheng med metadonbehandling. Yang og kolleger (2003, 2006) viste svekket læring og endringer i NMDA-reseptoren i unge rotter eksponert pre- og postnatalt for morfin (4-7 mg/kg, 2x/dag, GD1-PND21) som kunne motvirkes ved samtidig administrering av NMDA-reseptorantagonisten deksametofan. Lin et al (2009) testet voksne rotter eksponert for morfin på samme måte som i studiene til Yang (4-7 mg/kg, 2x/dag, GD1-PND21) og rapporterte om redusert arbeidsminne og referanseminne, samt svekket interaksjon mellom PSD-95 og NMDA-reseptorsubenheterne i hippokampus. Disse funnene indikerer at metadons antagonistiske effekt på NMDA-reseptoren kan være positiv for kognitiv funksjonsevne.

Også prenatal eksponering for heroin (10 mg/kg/dag, GD9-18), LAAM (1 mg/kg/dag, GD1-22) og oksykodon (15 mg/kg/dag, GD1-22) er vist å svekke læring og hukommelse i unge og voksne avkom (Davis et al 2010, Schrott et al 2008, Yanai et al 1992, 2000).

Samlet viser mange arbeider at prenatal eksponering for opioider har en negativ effekt på ulike kognitive funksjoner i unge og voksne individer. Antall studier med metadon eller buprenorfin er imidlertid lite, og viser til dels motstridende resultater.

4.2.2 Effekt på hjernens belønningssystem

Hovedfunn:

- 4 arbeider har vist forsterket effekt etter stoffeksponering i unge og voksne rotter eksponert prenatalt for metadon eller en høy dose buprenorfin.
- Studiene indikerer endringer i hjernens belønningssystem.

Chiang et al (2015) har ganske nylig vist at hannrotter som var blitt eksponert for metadon i fosterlivet (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) opplevde en sterkere belønningseffekt av metadon da de ble testet ved 10 ukers alder sammenlignet med dyr som ikke var pre-eksponert. Adferdstesten som ble benyttet, «conditioned place preference» (CPP), er en mye brukt test for å undersøke i hvilken grad et dyr opplever et stoff som belønnende eller ikke. Administrasjon av NMDA-reseptorantagonisten deksmetorfan sammen med metadon i graviditeten fjernet den forhøyede belønningseffekten av metadon.

Wong og medarbeidere (2014) benyttet samme eksponeringsregime som Chiang et al (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) og fant at 5 uker gamle rotter prenatalt eksponert for metadon fikk en kraftigere ruseffekt etter eksponering for metamfetamin sammenliknet med kontrolldyr. Denne effekten ble målt som en umiddelbar økning i løpsaktivitet.

Også prenatal eksponering for buprenorfin forsterker ruseffekten til metamfetamin. 8-12 uker gamle hannrotter eksponert for buprenorfin i svangerskapet (3 mg/kg/dag, GD3-20) viste økt løpsaktivitet etter gjentatt eksponering for metamfetamin. Det ble også funnet en kraftig økning i belønningseffekten, målt med CPP, etter kun to injeksjoner av en lav dose (Chiang et al 2014). Til forskjell fra studiene til Wong ble det ikke gjort tilsvarende funn i dyr prenatalt eksponert for metadon (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20). I denne studien ble det også vist redusert ekspresjon av dopaminreseptorer i hjernens belønningssystem (nucleus accumbens).

På midten av 1980-tallet viste Hovious og Peters (1985) at eksponering for metadon i fosterlivet og ammeperioden (5 mg/kg/dag) førte til at 12 uker gamle hannrotter fikk økt preferanse for å drikke en morfinløsning. Det ble imidlertid ikke sett noen økt preferanse for metadon. Denne forskjellen kan være relatert til ulik belønningseffekt av de to stoffene, men kan også skyldes at løsningene hadde ulik smak, og derfor ble preferert forskjellig.

Samlet viser disse resultatene at prenatal eksponering for metadon eller en høy dose buprenorfin trolig fører til langvarige endringer i hjernens belønningssystem, noe som gjør at effekten av en senere ruseksponering forsterkes. Overført til mennesker kan dette indikere økt tilbøyelighet for rusbruk i unge og voksne født av mødre i LAR.

Tilsvarende funn som for metadon og buprenorfin er også beskrevet for morfin. Gagin et al (1997) og Ramsey et al (1993) har vist at prenatal eksponering for morfin gjennom hele eller deler av graviditeten førte til en kraftigere morfinindusert belønningseffekt og økt selvadministrering av heroin og kokain i voksne rotter. I studien til Timar et al (2010) var den økte belønningseffekten etter pre- og postnatal morfineksponering (10 mg/kg/dag) mest utpreget i hunner. Prenatal eksponering for morfin (10 mg/kg, GD8-21) er også vist å øke sosial lek i 3 uker gamle rotter (Hol et al 1996, Niesink et al 1996, 1999). Disse funnene samsvarer med resultatene over ettersom motivasjon og belønning er viktige aspekter ved lek. Andre studier har vist at prenatal eksponering for morfin (10 mg/kg, 2x/dag, GD11-18/7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) ikke førte til noen forandring i den belønnende effekten da voksne dyr ble re-eksponert for morfin (Riley and Vathy 2006) eller metamfetamin (Chiang et al 2014).

4.2.3 Angst- og depresjonsliknende effekter

Hovedfunn:

- 3 studier viser symptomer på økt angst og depresjon i unge og voksne rotter prenatalt eksponert for metadon eller buprenorfin.
- Deler av effektene kan trolig forklares med en endring i samspillet mellom mor og avkom.
- Effektene synes å kunne være kjønnsespesifikke, men varierer mellom studiene.

Chen og kolleger (2015) har, ved bruk av to ulike atferdstester («light-dark transition» og «elevated plus maze»), vist at prenatal eksponering for metadon (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) eller buprenorfin (3 mg/kg/dag, GD3-20) økte angst-liknende atferd i 8-10 uker gamle rotter. Effektene var noe mindre sammenliknet med effektene etter tilsvarende morfineksponering (2-4 mg/kg, 2x/dag, GD3-20). For buprenorfin syntes endringene i atferd å være til dels kjønnsespesifikk med kraftigst effekt i hunnene.

Daly et al (2012) viste i sin studie at avkom av mødre eksponert for metadon gjennom drikkevannet (ca 2.4 mg/kg/dag, GD1-22/GD1-PND28) hadde en økning i angstrelatert atferd («open field» og «emergency test») ved 30, 60 og 120 dagers alder. Endringen var tydeligst hos dyr som var blitt eksponert gjennom ammeperioden, mens eksponering i fosterlivet alene ikke hadde noen effekt. Disse funnene kan tyde på at interaksjonen mellom mor og avkom etter fødsel er av betydning for utvikling av angst. Hos dyr tilsvarer imidlertid den første delen av ammeperioden en viktig utviklingsmessig periode (3.trimester i mennesker). Det er derfor vanskelig å skille betydningen av samspillet mellom mor og avkom, og det faktiske bidraget fra metadon. Resultatene til Daly viser at behandlingseffekten var kraftigst i hannene.

Hung et al (2013) rapporterte, med bruk av «forced swimming test» og «tail suspension test», at 21 dager gamle rotter eksponert for buprenorfin i fosterlivet (0.3 og 1 mg/kg/dag, GD7-21) viste depresjonsliknende atferd av den høyeste dosen. Endringen i atferd ble funnet i både hanner og hunner. De fant også reduksjon i plasmanivåene av BDNF («**brain-derived neurotrophic factor**») og neurotransmitteren serotonin, samt svekket CREB-aktivering i kortikalt vev.

Når det gjelder morfin har Voronina et al (1994) rapportert om økt angst («conflict test») i 2.5 måneder gamle hanner etter eksponering i siste halvdel av graviditeten (10 mg/kg, 2x/dag, GD9-19). I studien til Klausz et al (2011) ble det vist at prenatal morfineksposering (10 mg/kg/dag, GD1-PND21) til en viss grad økte depresjonsliknende atferd i unge og voksne rotter («forced swimming»). De fant imidlertid ingen endring i en test som benyttes for å undersøke angstrelatert atferd («elevated plus maze»).

4.2.4 Smerte

Hovedfunn:

- 5 studier har rapport endringer i oppfattelsen av smerte og/eller smertestillende effekt av opioid i unge og voksne dyr prenatalt eksponert for metadon eller en høy dose buprenorfin.

Chiang et al (2015) har rapportert at eksponering for metadon i fosterlivet (7 mg/kg, 2x/dag, GD3-20) økte sensitiviteten for smerte i 30 og 60 dager gamle avkom (hanner) som ble testet i en «tail-flick»- eller «hot plate»-test.

I en annen studie fant Chiang og kolleger (2010) at prenatal eksponering for buprenorfin (3 mg/kg/dag, GD3-20) førte til en betydelig dårligere smertestillende effekt av morfin i 8-12 uker gamle avkom («tail-flick») sammenliknet med prenatal eksponering for metadon (7 mg/kg/dag, 2x/dag, GD3-20) eller morfin (2-4 mg/kg/dag, 2x/dag, GD3-20). Det ble imidlertid ikke funnet noen endring i effekten av metadon eller buprenorfin i dyr som var blitt eksponert for hhv metadon eller buprenorfin i fosterlivet. Resultatene ble funnet i både hanner og hunner.

Hovious og Peters (1984) fant ingen endring i smerteresponsen etter pre- og perinatal eksponering for metadon (5 mg/kg, GD1-PND21), men viste redusert smertelindrende effekt av både metadon og morfin i 25 og 120 dager gamle rotter, målt ved «tail-flick»- og «hot plate»- test.

I studiene til Zagon og McLaughlin (1981a, 1982a) ble det funnet at prenatal eksponering for metadon (5 mg/kg/dag, GD1-PND21) reduserte smerteresponsen i både hunner og hanner frem til 60 dagers alder, og i hunner fram til 120 dagers alder. Det ble også vist økt smertelindrende effekt ved re-eksponering for metadon i 120 dager gamle hanner og hunner.

For morfin er det blitt vist at eksponering i deler av graviditeten (10 mg/kg, 2x/dag, GD5-21) førte til redusert smertestillende effekt hos hannrotter ved 3, 5 og 11 ukers alder (O'Callaghan and Holtzman 1976). Eksponering for morfin (3 mg/kg) de første 9 dagene etter fødsel (i perioden som er ekvivalent med 3.trimester i mennesker) ga også redusert smertestillende effekt av morfin, samt langvarig, hypersensitivitet overfor smerte (Zhang and Sweitzer 2008). Som beskrevet for metadon er morfinresultatene noe motstridene. Eriksson og Ronnback (1989) fant at prenatal morfineksposering (25 mg/kg, GD1-17) økte den smertestillende effekten av morfin i voksne rotter. Tilsvarende funn ble gjort i voksne mus eksponert i de to siste ukene av svangerskapet (10-40 mg/kg, GD7-21) (Castellano and Ammassari-Teule 1984).

4.2.5 Øyeaktivitet/VEPs

Øyeaktivitet, eller «visual evoked potentials» (VEPs), kan benyttes som et mål på modning av hjernens strukturer. Det er kun funnet en studie som har undersøkt dette i forsøksdyr etter prenatal eksponering for metadon. Pinto et al (1986) fant ingen langvarige endringer i den elektriske aktiviteten i synskorteks til rotter som var blitt eksponert for metadon i fosterlivet og de 10 første dagene etter fødsel. Dosene som ble benyttet i denne studien var imidlertid lave (0.75-3 mg/kg/dag).

4.3 Cellulære og molekylære endringer

I eksperimentelle dyrestudier har man i tillegg til atferd mulighet til å studere biologiske mekanismer. Prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin er vist å føre til en rekke ulike cellulære og molekylære forandringer. Forsinket neuronal utvikling (Robinson et al 1993), svekket neurogenese (Wu et al 2014), endret myelinering (Sanchez et al 2008, Vestal-Laborde et al 2014), redusert nivå av ulike vekstfaktorer (Hung et al 2013, Wu et al 2001), redusert nivå og/eller endret regulering av ulike neurotransmittere (De Montis et al 1983, Guo et al 1990, McGinty and Ford 1980, Robinson 2002, Robinson et al 1997, Slotkin et al 1979), endret nivå og/eller svekket funksjon av reseptorer (Belcheva et al 1994, 1998, Darmani et al 1992, Hou et al 2004, Wang et al 1986), samt redusert nivå av DNA og RNA (Peters 1977, Zagon and McLaughlin 1977c, 1978, 1982b) er rapportert i ulike studier.

Disse resultatene viser at eksponering for metadon eller buprenorfin i hele eller deler av fosterlivet kan forsinke utviklingen av og/eller endre signaloverføringen i nervesystemet i unge dyr. Selv om noen av endringene er vist å kunne normaliseres over tid, vil mange av dem trolig kunne føre til ulike langvarige negative konsekvenser for dyrene.

4.4 Epigenetiske studier

Epigenetikk er studier av hvordan det ytre miljøet påvirker arvematerialet og forandrer aktiviteten og funksjonen til genene, uten av selve DNA-koden er endret. Slike endringer omfatter bl.a. metylering og acetylering av DNA, og histonmodifisering.

Epigenetiske forandringer forårsaket av langvarig eksponering for opioider og eventuelle terapeutiske konsekvenser av dette er lite studert. Det er vist at metadon kan metylere humant DNA (Knothe et al 2016) og at det trolig er en sammenheng mellom økt DNA-metylering og opioidindusert overfølsomhet for smerte (Doehring et al 2013). Schuster et al (2017) fant at metadonbehandling førte til økt DNA-metylering og reduserte serumkonsentrasjoner av BDNF («brain-derived neurotrophic factor»), og postulerte at dette kan være forklaringen på depresjonslignende atferd hos LAR-pasienter. Det er også vist at det reduserte nivået av opioidreseptorer en finner hos tidligere heroinmisbrukere i metadonbehandling kan relateres til endringer i DNA-metyleringen (Nielsen et al 2009, Toskulkao et al 2010).

Epigenetiske endringer vil potensielt kunne nedarves til nye generasjoner. Transgenerasjonseffekter er vist etter metadoneksponering i forsøksdyr (Joffe et al 1976, Soyka et al 1979, Walz et al 1983), men er så langt ikke studert i mennesker etter eksponering for metadon eller andre opioider.

5. OPPSUMMERING

Eksperimentelle studier i forsøksdyr er en verdifull tilnærming for å undersøke ulike effekter av prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin. Antall studier på dette området, spesielt mht. langvarige effekter, er imidlertid begrenset.

Eksponering for metadon eller buprenorfin i fosterlivet øker forekomsten av pre- og perinatal død. Avkom av mødre eksponert for metadon har redusert fødselsvekt, og ofte abstinenssymptomer som kan vedvare i flere uker etter fødsel. Liknende, men noe mildere effekter er sett etter eksponering for buprenorfin.

Når det gjelder langvarige effekter etter prenatal metadon- eller buprenorfineksponering foreligger det i dag kun 18 studier som oppfyller utvalgskriteriene i denne kunnskapsoppsummeringen. I alle disse studiene er det benyttet rotter og ulike atferdstester.

Tre artikler rapporterer om svekket læring, hukommelse eller nyhetspreferanse i unge og voksne dyr (Chen et al 2015, Van Wagoner et al 1980, Zagon et al 1979b), mens tre artikler ikke finner noen endring i kognitiv funksjonsevne (Chiang et al 2015, Hung et al 2013, Hutchings et al 1979b). Bruk av ulike tester kan være en mulig forklaring på disse forskjellene.

Fire arbeider viser en forsterket effekt etter stoffeksponering i unge og voksne dyr, noe som indikerer langvarige endringer i hjernens belønningssystem (Chiang et al 2014, 2015, Wong et al 2014, Hovious and Peters 1985). Overført til mennesker kan dette indikere at individer som er blitt eksponert i fosterlivet har økt sårbarhet for senere rus(mis)bruk.

Tre studier viser symptomer på angst og depresjon i unge og voksne rotter (Chen et al 2015, Daly et al 2012, Hung et al 2013). Disse effektene kan imidlertid trolig delvis forklares med en endring i samspillet mellom mor og avkom.

Fem studier finner endringer i oppfattelsen av smerte og/eller smertestillende effekt av opioid i unge og voksne dyr (Chiang et al 2010, 2015, Hovious and Peters 1984, Zagon and McLaughlin 1981a, 1982a).

Kun et fåtall av studiene som har rapportert atferdsendringer har inkludert molekylære eller cellulære mål for å forklare de underliggende biologiske mekanismene (Chiang et al 2010, 2014, 2015, Hung et al 2013). Det er imidlertid mange studier som viser at prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin forsinket utviklingen av og/eller endrer signaloverføringen i nervesystemet i unge dyr.

Det hevdes at buprenorfin er et tryggere stoff å bruke sammenliknet med metadon, og derfor bør være førstevalget for gravide. Flere studier i denne rapporten viser imidlertid at prenatal buprenorfineksponering fører til en rekke negative effekter i avkommet (Chen et al 2015, Chiang et al 2014). Det er videre vist at effekten av ulike buprenorfindoser er uforutsigbar, og at høye doser kan føre til mer uttalte effekter sammenliknet med metadon (Chiang et al 2014).

Det er blitt foreslått at gravide bør trappe ned bruken av metadon eller buprenorfin i svangerskapet. Det er studier i dyr som viser at opioideksponering under enten graviditeten eller ammeperioden kan være mer skadelig for avkommet sammenliknet med om eksponeringen opprettholdes gjennom både graviditet og ammeperiode (Lichtblau and Sparber 1981, Van Wagoner et al 1980, Zagon and MCLAughlin 1977). Dette er imidlertid studier hvor en ikke har redusert opioid-dosen gradvis, men avsluttet ved f.eks. å flytte avkommet til ueksponerte ammer rett etter fødsel. Å endre miljøet til dyrene samtidig som stoffeksponeringen avsluttes brått vil kunne påvirke utfallet av resultatene.

I den senere tiden er det kommet noen studier som viser at metadon trolig kan føre til epigenetiske endringer. Slike endringer kan potensielt nedarves til nye generasjoner, men kunnskapen på dette feltet er foreløpig svært begrenset.

Samlet viser eksperimentelle studier i forsøksdyr at prenatal eksponering for metadon eller buprenorfin kan føre til svekket kognitiv funksjonsevne, økt sensitivitet overfor stoffeksponering, symptomer på angst og depresjon, samt endringer i oppfattelsen av smerte og smertestillende effekt av opioid. Disse funnene er urovekkende ettersom de indikerer at dette også vil kunne gjelde barn av mødre som har vært i LAR-behandling under graviditeten.

Det er fortsatt store kunnskapshull og mange ubesvarte spørsmål på dette feltet, bl.a. når det gjelder å sammenlikne utfall etter ulike metadon- og buprenorfindoser, hvordan eksponering i ulike perioder av graviditeten og kontrollert reduksjon i eksponering påvirker foster/avkom, hvilken effekt eksponering for heroin før og under graviditeten har på avkommet sammenliknet med om eksponeringen endres til metadon eller buprenorfin eller avsluttes (dvs. seponering av all opioideksponering) når graviditet er bekreftet, og hvilke cellulære og molekylære endringer som forekommer. Før en kan trekke endelige konklusjoner fra eksperimentelle studier anses det derfor som helt nødvendig med mer forskning. Framtidige studier bør omfatte både ulike atferdsstudier og cellulære/molekylære studier i unge og voksne dyr.

6. TAKK

Takk til forsker Inger Lise Bogen, forsker Elisabeth L Øiestad og seksjonsleder Vigdis Vindenes, alle ved Seksjon for rusmiddelforskning, Oslo Universitetssykehus, som har lest, kommentert og kommet med verdifulle innspill på ulike utkast av denne oppsummeringen. Også takk til bibliotekar Marita Heintz ved Folkehelseinstituttet som utførte det systematiske søket i desember 2016.

7. REFERANSER

- Andersen, J. M., C. F. Olausson, A. Ripel and J. Morland (2011). "Long-term methadone treatment impairs novelty preference in rats both when present and absent in brain tissue." *Pharmacol Biochem Behav* 98(3): 412-416.
- Barr, G. A., A. Zmitrovich, A. S. Hamowy, P. Y. Liu, S. Wang and D. E. Hutchings (1998). "Neonatal withdrawal following pre- and postnatal exposure to methadone in the rat." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 60(1): 97-104.
- Belcheva, M. M., L. M. Bohn, M. T. Ho, F. E. Johnson, J. Yanai, S. Barron and C. J. Coscia (1998). "Brain opioid receptor adaptation and expression after prenatal exposure to buprenorphine." *Brain Research. Developmental Brain Research* 111(1): 35-42.
- Belcheva, M. M., S. Dawn, J. Barg, R. J. McHale, M. T. Ho, E. Ignatova and C. J. Coscia (1994). "Transient down-regulation of neonatal rat brain mu-opioid receptors upon in utero exposure to buprenorphine." *Brain Res Dev Brain Res* 80(1-2): 158-162.
- Buchenauer, D., M. Turnbow and M. A. Peters (1974). "Effect of chronic methadone administration on pregnant rats and their offspring." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 189(1): 66-71.
- Castellano, C. and M. Ammassari-Teule (1984). "Prenatal exposure to morphine in mice: enhanced responsiveness to morphine and stress." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 21(1): 103-108.
- Chandler, J. M., P. W. Robie, J. C. Schooler and M. M. Desmond (1975). "The effects of methadone on maternal-fetal interactions in the rat." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 192(3): 549-554.
- Chen, H. H., Y. C. Chiang, Z. F. Yuan, C. C. Kuo, M. D. Lai, T. W. Hung, I. K. Ho and S. T. Chen (2015). "Buprenorphine, methadone, and morphine treatment during pregnancy: behavioral effects on the offspring in rats." *Neuropsychiatric Disease & Treatment* 11: 609-618.
- Chiang, Y. C., T. W. Hung and I. K. Ho (2014). "Development of sensitization to methamphetamine in offspring prenatally exposed to morphine, methadone and buprenorphine." *Addiction Biology* 19(4): 676-686.
- Chiang, Y. C., T. W. Hung, C. W. Lee, J. Y. Yan and I. K. Ho (2010). "Enhancement of tolerance development to morphine in rats prenatally exposed to morphine, methadone, and buprenorphine." *Journal of Biomedical Science* 17: 46.
- Chiang, Y. C., L. C. Ye, K. Y. Hsu, C. W. Liao, T. W. Hung, W. J. Lo, I. K. Ho and P. L. Tao (2015). "Beneficial effects of co-treatment with dextromethorphan on prenatally methadone-exposed offspring." *Journal of Biomedical Science* 22: 19.
- Daly, F. M., R. N. Hughes and L. J. Woodward (2012). "Subsequent anxiety-related behavior in rats exposed to low-dose methadone during gestation, lactation or both periods consecutively." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 102(2): 381-389.
- Darmani, N. A., S. H. Schnoll, U. Pandey and B. R. Martin (1992). "Chronic prenatal methadone exposure alters central opioid mu-receptor affinity in both fetal and maternal brain." *Neurotoxicology & Teratology* 14(4): 265-271.
- Davis, C. P., L. M. Franklin, G. S. Johnson and L. M. Schrott (2010). "Prenatal oxycodone exposure impairs spatial learning and/or memory in rats." *Behavioural Brain Research* 212(1): 27-34.

- De Montis, G. M., P. Devoto, R. M. Angioi, V. Curreli and A. Tagliamonte (1983). "In utero exposure to methadone produces a stable decrease of the cortex 5-HT transport system in rats." *Eur J Pharmacol* 90(1): 57-63.
- Doehring, A., B. G. Oertel, R. Sittl and J. Lotsch (2013). "Chronic opioid use is associated with increased DNA methylation correlating with increased clinical pain." *Pain* 154(1): 15-23.
- Eriksson, P. S. and L. Ronnback (1989). "Effects of prenatal morphine treatment of rats on mortality, bodyweight and analgesic response in the offspring." *Drug & Alcohol Dependence* 24(3): 187-194.
- Field, T., A. McNelly and D. Sadava (1977). "Effect of maternal methadone addiction on offspring in rats." *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 228(2): 300-303.
- Freeman, P. R. (1980). "Methadone exposure in utero: effects on open-field activity in weanling rats." *International Journal of Neuroscience* 11(4): 295-300.
- Gagin, R., N. Kook, E. Cohen and Y. Shavit (1997). "Prenatal morphine enhances morphine-conditioned place preference in adult rats." *Pharmacol Biochem Behav* 58(2): 525-528.
- Grove, L. V., M. K. Etkin and J. A. Rosecrans (1979). "Behavioral effects of fetal and neonatal exposure to methadone in the rat." *Neurobehavioral Toxicology* 1(1): 87-95.
- Guo, H. Z., E. K. Enters, K. P. McDowell and S. E. Robinson (1990). "The effect of prenatal exposure to methadone on neurotransmitters in neonatal rats." *Brain Res Dev Brain Res* 57(2): 296-298.
- Hein, P. R., J. S. Schatorje and H. J. Frencken (1988). "The effect of chronic methadone treatment on intra-uterine growth of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*)." *European Journal of Obstetrics, Gynecology, & Reproductive Biology* 27(1): 81-85.
- Hol, T., M. Niesink, J. M. van Ree and B. M. Spruijt (1996). "Prenatal exposure to morphine affects juvenile play behavior and adult social behavior in rats." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 55(4): 615-618.
- Hou, Y., Y. Tan, M. M. Belcheva, A. L. Clark, D. S. Zahm and C. J. Coscia (2004). "Differential effects of gestational buprenorphine, naloxone, and methadone on mesolimbic mu opioid and ORL1 receptor G protein coupling." *Brain Res Dev Brain Res* 151(1-2): 149-157.
- Hovious, J. R. and M. A. Peters (1984). "Analgesic effect of opiates in offspring of opiate-treated female rats." *Pharmacol Biochem Behav* 21(4): 555-559.
- Hovious, J. R. and M. A. Peters (1985). "Opiate self-administration in adult offspring of methadone-treated female rats." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 22(6): 949-953.
- Hung, C. J., C. C. Wu, W. Y. Chen, C. Y. Chang, Y. H. Kuan, H. C. Pan, S. L. Liao and C. J. Chen (2013). "Depression-like effect of prenatal buprenorphine exposure in rats." *PLoS One* 8(12): e82262.
- Hutchings, D. E., E. Feraru, H. S. Gorinson and R. R. Golden (1979a). "Effects of prenatal methadone on the rest-activity cycle of the pre-weanling rat." *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* 1(1): 33-40.
- Hutchings, D. E., A. S. Hamowy, E. M. Williams and A. C. Zmitrovich (1996). "Prenatal administration of buprenorphine in the rat: effects on the rest-activity cycle at 22 and 30 days of age." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 55(4): 607-613.
- Hutchings, D. E., H. F. Hunt, J. P. Towey, T. S. Rosen and H. S. Gorinson (1976). "Methadone during pregnancy in the rat: dose level effects on maternal and perinatal mortality and growth in the offspring." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 197(1): 171-179.
- Hutchings, D. E., J. P. Towey, H. S. Gorinson and H. F. Hunt (1979b). "Methadone during pregnancy: assessment of behavioral effects in the rat offspring." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 208(1): 106-112.
- Hutchings, D. E., A. Zmitrovich, S. C. Brake, D. Malowany, S. Church and T. J. Nero (1992). "Prenatal administration of methadone using the osmotic minipump: effects on maternal and offspring toxicity, growth, and behavior in the rat." *Neurotoxicology & Teratology* 14(1): 65-71.

- Hutchings, D. E., A. C. Zmitrovich, S. C. Brake, S. H. Church and D. Malowany (1993). "Prenatal administration of methadone in the rat increases offspring acoustic startle amplitude at age 3 weeks." *Neurotoxicology & Teratology* 15(3): 157-164.
- Hutchings, D. E., A. C. Zmitrovich, A. S. Hamowy and P. Y. Liu (1995). "Prenatal administration of buprenorphine using the osmotic minipump: a preliminary study of maternal and offspring toxicity and growth in the rat." *Neurotoxicology & Teratology* 17(4): 419-423.
- Joffe, J. M., J. M. Peterson, D. J. Smith and L. F. Soyka (1976). "Sub-lethal effects on offspring of male rats treated with methadone before mating." *Research Communications in Chemical Pathology & Pharmacology* 13(4): 611-621.
- Klausz, B., O. Pinter, M. Sobor, Z. Gyarmati, Z. Furst, J. Timar and D. Zelena (2011). "Changes in adaptability following perinatal morphine exposure in juvenile and adult rats." *European Journal of Pharmacology* 654(2): 166-172.
- Knothe, C., A. Doeiring, A. Ultsch and J. Lotsch (2016). "Methadone induces hypermethylation of human DNA." *Epigenomics* 8(2): 167-179.
- Kunko, P. M., J. A. Smith, M. J. Wallace, J. R. Maher, J. J. Saady and S. E. Robinson (1996). "Perinatal methadone exposure produces physical dependence and altered behavioral development in the rat." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 277(3): 1344-1351.
- Leslie, F. M., S. Tso and D. E. Hurlbut (1982). "Differential appearance of opiate receptor subtypes in neonatal rat brain." *Life Sci* 31(12-13): 1393-1396.
- Lichtblau, L. and S. B. Sparber (1981). "Opiate withdrawal in utero increases neonatal morbidity in the rat." *Science* 212(4497): 943-945.
- Lin, C. S., P. L. Tao, Y. J. Jong, W. F. Chen, C. H. Yang, L. T. Huang, C. F. Chao and S. N. Yang (2009). "Prenatal morphine alters the synaptic complex of postsynaptic density 95 with N-methyl-D-aspartate receptor subunit in hippocampal CA1 subregion of rat offspring leading to long-term cognitive deficits." *Neuroscience* 158(4): 1326-1337.
- McGinty, J. F. and D. H. Ford (1980). "Effects of prenatal methadone on rat brain catecholamines." *Developmental Neuroscience* 3(4-6): 224-234.
- McLaughlin, P. J., I. S. Zagon and W. J. White (1978). "Perinatal methadone exposure in rats. Effects on body and organ development." *Biology of the Neonate* 34(1-2): 48-54.
- Nasiraei-Moghadam, S., M. A. Sherafat, M. S. Safari, F. Moradi, A. Ahmadiani and L. Dargahi (2013). "Reversal of prenatal morphine exposure-induced memory deficit in male but not female rats." *Journal of Molecular Neuroscience* 50(1): 58-69.
- Nettleton, R. T., M. Wallisch and G. D. Olsen (2008). "Respiratory effects of chronic in utero methadone or morphine exposure in the neonatal guinea pig." *Neurotoxicology & Teratology* 30(5): 448-454.
- Nielsen, D. A., V. Yuferov, S. Hamon, C. Jackson, A. Ho, J. Ott and M. J. Kreek (2009). "Increased OPRM1 DNA methylation in lymphocytes of methadone-maintained former heroin addicts." *Neuropsychopharmacology* 34(4): 867-873.
- Niesink, R. J., L. van Buren-van Duinkerken and J. M. van Ree (1999). "Social behavior of juvenile rats after in utero exposure to morphine: dose-time-effect relationship." *Neuropharmacology* 38(8): 1207-1223.
- Niesink, R. J., L. J. Vanderschuren and J. M. van Ree (1996). "Social play in juvenile rats after in utero exposure to morphine." *Neurotoxicology* 17(3-4): 905-912.
- Niu, L., B. Cao, H. Zhu, B. Mei, M. Wang, Y. Yang and Y. Zhou (2009). "Impaired in vivo synaptic plasticity in dentate gyrus and spatial memory in juvenile rats induced by prenatal morphine exposure." *Hippocampus* 19(7): 649-657.

- O'Callaghan, J. P. and S. G. Holtzman (1976). "Prenatal administration of morphine to the rat: tolerance to the analgesic effect of morphine in the offspring." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 197(3): 533-544.
- Ohtani, M., H. Kotaki, K. Uchino, Y. Sawada and T. Iga (1994). "Pharmacokinetic analysis of enterohepatic circulation of buprenorphine and its active metabolite, norbuprenorphine, in rats." *Drug Metab Dispos* 22(1): 2-7.
- Peters, M. A. (1977). "The effect of maternally administered methadone on brain development in the offspring." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 203(2): 340-346.
- Pinto, F., M. Onofrij, P. Pola, E. Tempesta and M. G. Torrioli (1986). "Fetal addiction to methadone: postnatal abstinence syndrome and development of visual evoked potentials." *Drug & Alcohol Dependence* 18(1): 1-10.
- Ramsey, N. F., R. J. Niesink and J. M. Van Ree (1993). "Prenatal exposure to morphine enhances cocaine and heroin self-administration in drug-naive rats." *Drug Alcohol Depend* 33(1): 41-51.
- Riley, M. A. and I. Vathy (2006). "Mid- to late gestational morphine exposure does not alter the rewarding properties of morphine in adult male rats." *Neuropharmacology* 51(2): 295-304.
- Robinson, S. E. (2002). "Effects of perinatal buprenorphine and methadone exposures on striatal cholinergic ontogeny." *Neurotoxicol Teratol* 24(2): 137-142.
- Robinson, S. E., H. Guo and R. F. Spencer (1993). "Prenatal exposure to methadone delays the development of striatal cholinergic neurons." *Brain Res Dev Brain Res* 76(2): 239-248.
- Robinson, S. E., J. R. Maher, M. J. Wallace and P. M. Kunko (1997). "Perinatal methadone exposure affects dopamine, norepinephrine, and serotonin in the weanling rat." *Neurotoxicol Teratol* 19(4): 295-303.
- Robinson, S. E. and M. J. Wallace (2001). "Effect of perinatal buprenorphine exposure on development in the rat." *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* 298(2): 797-804.
- Sanchez, E. S., J. W. Bigbee, W. Fobbs, S. E. Robinson and C. Sato-Bigbee (2008). "Opioid addiction and pregnancy: perinatal exposure to buprenorphine affects myelination in the developing brain." *Glia* 56(9): 1017-1027.
- Schrott, L. M., L. Franklin and P. A. Serrano (2008). "Prenatal opiate exposure impairs radial arm maze performance and reduces levels of BDNF precursor following training." *Brain Res* 1198: 132-140.
- Schuster, R., A. Kleimann, M. K. Rehme, L. Taschner, A. Glahn, A. Groh, H. Frieling, R. Lichtinghagen, T. Hillemacher, S. Bleich and A. Heberlein (2017). "Elevated methylation and decreased serum concentrations of BDNF in patients in levomethadone compared to diamorphine maintenance treatment." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 267(1): 33-40.
- Seidler, F. J., W. L. Whitmore and T. A. Slotkin (1982). "Delays in growth and biochemical development of rat brain caused by maternal methadone administration: are the alterations in synaptogenesis and cellular maturation independent of reduced maternal food intake?" *Developmental Neuroscience* 5(1): 13-18.
- Slamberova, R., C. J. Schindler, M. Pometlova, C. Urkuti, J. A. Purow-Sokol and I. Vathy (2001). "Prenatal morphine exposure differentially alters learning and memory in male and female rats." *Physiology & Behavior* 73(1-2): 93-103.
- Slotkin, T. A., W. L. Whitmore, M. Salvaggio and F. J. Seidler (1979). "Perinatal methadone addiction affects brain synaptic development of biogenic amine systems in the rat." *Life Sciences* 24(13): 1223-1230.
- Soyka, L. F., J. M. Joffe and S. M. Smith (1979). "Adverse effects of methadone (METH) on progeny acting through sires: Block by testosterone." *Federation Proceedings* 38(3 I): No. 1102.
- Thompson, C. I. and I. S. Zagon (1981). "Long-term thermoregulatory changes following perinatal methadone exposure in rats." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 14(5): 653-659.

- Thompson, C. I., I. S. Zagon and P. J. McLaughlin (1979). "Impaired thermal regulation in juvenile rats following perinatal methadone exposure." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 10(4): 551-556.
- Timar, J., M. Sobor, K. P. Kiraly, S. Gyarmati, P. Riba, M. Al-Khrasani and S. Furst (2010). "Peri, pre and postnatal morphine exposure: exposure-induced effects and sex differences in the behavioural consequences in rat offspring." *Behavioural Pharmacology* 21(1): 58-68.
- Toskulkao, T., R. Pornchai, V. Akkarapatumwong, S. Vatanatunyakum and P. Govitrapong (2010). "Alteration of lymphocyte opioid receptors in methadone maintenance subjects." *Neurochem Int* 56(2): 285-290.
- Van Wagoner, S., J. Risser, M. Moyer and D. Lasky (1980). "Effect of maternally administered methadone on discrimination learning of rat offspring." *Percept Mot Skills* 50(3 Pt 2): 1119-1124.
- Vestal-Laborde, A. A., A. C. Eschenroeder, J. W. Bigbee, S. E. Robinson and C. Sato-Bigbee (2014). "The opioid system and brain development: effects of methadone on the oligodendrocyte lineage and the early stages of myelination." *Dev Neurosci* 36(5): 409-421.
- Voronina, T. A., N. G. Chobanov, G. M. Molodavkin and V. N. Zhukov (1994). "Increased anxiety and reduced pain sensitivity in offspring of rats after prenatal morphinization." *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 118(8): 844-846.
- Wallisch, M., C. V. Subban, R. T. Nettleton and G. D. Olsen (2010). "Chronic in utero buprenorphine exposure causes prolonged respiratory effects in the guinea pig neonate." *Neurotoxicology & Teratology* 32(3): 398-405.
- Walz, M. A., W. M. Davis and H. B. Pace (1983). "Parental methadone treatment: a multigenerational study of development and behavior in offspring." *Developmental Pharmacology & Therapeutics* 6(2): 125-137.
- Wang, C., P. Pasulka, B. Perry, W. J. Pizzi and S. H. Schnoll (1986). "Effect of perinatal exposure to methadone on brain opioid and alpha 2-adrenergic receptors." *Neurobehav Toxicol Teratol* 8(4): 399-402.
- Wong, C. S., Y. J. Lee, Y. C. Chiang, L. W. Fan, I. K. Ho and L. T. Tien (2014). "Effect of prenatal methadone on reinstated behavioral sensitization induced by methamphetamine in adolescent rats." *Behavioural Brain Research* 258: 160-165.
- Wu, C. C., C. J. Hung, C. H. Shen, W. Y. Chen, C. Y. Chang, H. C. Pan, S. L. Liao and C. J. Chen (2014). "Prenatal buprenorphine exposure decreases neurogenesis in rats." *Toxicology Letters* 225(1): 92-101.
- Wu, V. W., Q. Mo, T. Yabe, J. P. Schwartz and S. E. Robinson (2001). "Perinatal opioids reduce striatal nerve growth factor content in rat striatum." *Eur J Pharmacol* 414(2-3): 211-214.
- Yanai, J., Y. Avraham, S. Levy, J. Maslaton, C. G. Pick, Y. Rogel-Fuchs and E. A. Zahalka (1992). "Alterations in septohippocampal cholinergic innervations and related behaviors after early exposure to heroin and phencyclidine." *Brain Research. Developmental Brain Research* 69(2): 207-214.
- Yanai, J., R. A. Steingart, N. Snapir, G. Gvoryahu, I. Rozenboim and A. Katz (2000). "The relationship between neural alterations and behavioral deficits after prenatal exposure to heroin." *Annals of the New York Academy of Sciences* 914: 402-411.
- Yang, S. N., L. T. Huang, C. L. Wang, W. F. Chen, C. H. Yang, S. Z. Lin, M. C. Lai, S. J. Chen and P. L. Tao (2003). "Prenatal administration of morphine decreases CREBSerine-133 phosphorylation and synaptic plasticity range mediated by glutamatergic transmission in the hippocampal CA1 area of cognitive-deficient rat offspring." *Hippocampus* 13(8): 915-921.
- Yang, S. N., C. A. Liu, M. Y. Chung, H. C. Huang, G. C. Yeh, C. S. Wong, W. W. Lin, C. H. Yang and P. L. Tao (2006). "Alterations of postsynaptic density proteins in the hippocampus of rat offspring from

- the morphine-addicted mother: Beneficial effect of dextromethorphan." *Hippocampus* 16(6): 521-530.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1977a). "Effect of chronic maternal methadone exposure on perinatal development." *Biology of the Neonate* 31(5-6): 271-282.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1977b). "The effects of different schedules of methadone treatment on rat brain development." *Experimental Neurology* 56(3): 538-552.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1977c). "Methadone and brain development." *Experientia* 33(11): 1486-1487.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1978). "Perinatal methadone exposure and brain development: A biochemical study." *Journal of Neurochemistry* 31(1): 49-54.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1981a). "Enhanced sensitivity to methadone in adult rats perinatally exposed to methadone." *Life Sciences* 29(11): 1137-1142.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1981b). "Withdrawal-like symptoms in young and adult rats maternally exposed to methadone." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 15(6): 887-894.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1982a). "Analgesia in young and adult rats perinatally exposed to methadone." *Neurobehav Toxicol Teratol* 4(4): 455-457.
- Zagon, I. S. and P. J. McLaughlin (1982b). "Comparative effects of postnatal undernutrition and methadone exposure on protein and nucleic acid contents of the brain and cerebellum in rats." *Developmental Neuroscience* 5(5-6): 385-393.
- Zagon, I. S., P. J. McLaughlin and C. I. Thompson (1979a). "Development of motor activity in young rats following perinatal methadone exposure." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 10(5): 743-749.
- Zagon, I. S., P. J. McLaughlin and C. I. Thompson (1979b). "Learning ability in adult female rats perinatally exposed to methadone." *Pharmacology, Biochemistry & Behavior* 10(6): 889-894.
- Zhang, G. H. and S. M. Sweitzer (2008). "Neonatal morphine enhances nociception and decreases analgesia in young rats." *Brain Research* 1199: 82-90.



Postadresse: Pb. 7000,
St. Olavs plass, 0130 Oslo

Telefon: +47 810 20 050

Faks: +47 24 16 30 01

E-post: postmottak@helsedir.no

www.helsedirektoratet.no