

Praha, 2016

MUDr. Filip Tylš

Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta



Disertační práce

Elektroencefalografické změny v animálním serotonergním modelu psychózy –
studium EEG konektivity ve vztahu k chování

The electroencephalographic changes in animal serotonergic model of psychosis –
– the study of EEG connectivity in relation to behavior

Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD
Pracoviště: Národní Ústav Duševního Zdraví (NÚDZ)
Studijní program: Neurovědy

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 14. 9. 2016

FILIP TYLŠ

Identifikační záznam:

TYLŠ, Filip. *Elektroencefalografické změny v animálním serotonergním modelu psychózy – studium EEG konektivity ve vztahu k chování. [The electroencephalographic changes in animal serotonergic model of psychosis – the study of EEG connectivity in relation to behavior]*. Praha, 2016. 94 stran, 11 příloh. Disertační práce PhD. Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta. Národní Ústav Duševního Zdraví. Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD.

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat především mému školiteli MUDr. Tomášovi Páleníčkovi, PhD za jeho čas strávený vedením mé práce, odbornou i osobní podporu a velkou inspiraci v průběhu celého mého doktorandského studia. Mé díky patří též mé rodině a přítelkyni za podporu v průběhu studia.

Poděkování patří též celému kolektivu Národního Ústavu Duševního Zdraví (NÚDZ), zejména operačnímu týmu skupiny VP1 (Bc. Čestmírovi Vejmolovi, MUDr. Lukáši Kadeřábekovi, Mgr. Liborovi Uttlovi, MUDr. Michaele Lipski) a laboratorním asistentkám. Děkuji také kolegům, kteří svými nápady i systematickou prací přispěli k analýze dat zde zpracovaných, jmenovitě Ing. Václavě Piorecké (zpracování QEEG dat v programu Matlab), Ing. Vlastimilovi Koudelkovi, PhD (klastrová analýza EEG dat), MUDr. Tomášovi Novákovi, PhD (konzultace statistických analýz), Ing. Martinu Kuchařovi, PhD a kolektivu Laboratoře forenzní analýzy biologicky aktivních látek (farmakokinetika psilocinu). Rád bych také poděkoval kolegům, se kterými jsem vzájemně sdílel vědecké poznatky a kontakt s nimi obohatil tuto práci, konkrétně Mgr. Michaele Viktorinové, MSc, MUDr. Jakubovi Korčákovi, MUDr. Martinovi Brunovskému, PhD, prof. MUDr. Jiřímu Horáčkovi, PhD, mému školiteli a mým studentům Čestmírovi Vejmolovi a Tereze Rydzykové. Další díky patří Bc. Janu Tichému za korekturu a překlady odborných článků k publikaci. V neposlední řadě bych rád poděkoval členům České Psychedelické Společnosti (CZEPS) za podporu a popularizaci výzkumu. Data obsažená v této práci byla podpořena grantem IGA MHCR NT/13897.

Souhrn

Předkládaná práce se zabývá elektrofyziologickými a behaviorálními korelátů účinku serotonergních psychedelik v rámci animálního modelu psychózy. V obecné části je popsána fenomenologie a neurobiologie psychotických onemocnění a změněných stavů vědomí způsoběných intoxikací serotonergními psychedeliky. Dále se práce věnuje přehledu farmakologických modelů akutní psychózy se zaměřením na serotonergní látky, zejména pak aktivní látky z halucinogenních hub – indolamin psilocybin a jeho aktivní metabolit psilocin. Ve stručnosti je přiblížena je metoda kvantitativní elektrofyziologie (QEEG) a shrnuty hlavní nálezy v QEEG u zvířat i lidí způsoběných intoxikací serotonergními psycheliky. Vlastní experimentální část práce popisuje farmakokinetiku psilocinu, jeho vliv na behaviorální vzorec, lokomoci a senzomotorické zpracování informace a také pohlavní rozdíly v behaviorální odpovědi. Psilocin vedl k atypickým behaviorálním figurám, snížení lokomoce a narušení sezorimotorického zpracování informace ve střední dávce, přičemž samice byli k těmto účinkům rezistentnější. Dále se zaměřuje na dynamiku QEEG změn v čase (EEG absolutní výkonová spektra a EEG koherence) snímané z kůry mozku volně se pohybujícího laboratorního potkana v průběhu behaviorální inaktivity vyvolané intoxikací psilocinem a dalšími serotonergními halucinogeny. Všechny serotonergní halucinogeny vedly ke snížení absolutního spektrálního EEG výkonu a snížení EEG koherence s převahou v nižších frekvenčních pásmech. V případě psilocinu docházelo kromě celkového snížení EEG výkonu též lokálnímu zvýšení výkonu v oblasti theta a gama v temporo-parietálních oblastech. Klastrová analýza EEG konektivity po psilocinu našla 4 nezávislé konektivní sítě. Práce též popisuje mechanismy behaviorálních a QEEG změn s využitím selektivních antagonistů serotoninových receptorů (5HT1A, 5HT2A, 5HT2B, 5HT2C) a hlavních zástupců antipsychotik (klozapin a haloperidol). Selektivní antagonisté 5HT receptorů se významně podílí na psychedelickém účinku těchto látek (hypolokomoční účinek, absolutní EEG výkon, EEG koherence). Antipsychotika upravují absolutní EEG výkon, nevedou však k normalizaci EEG diskonekce indukované psilocinem. Poslední část práce naznačuje translační validitu animálního modelu psychózy navozené psilocinem díky srovnání animálních dat s dobrovolníky pod vlivem psilocibinu – popisuje shodně snížení základní aktivity a diskonekci, na druhou stranu rozdíly v oblasti vyšších frekvenčních pásmem.

Klíčová slova: Serotonergní halucinogeny / psychedelika, psilocybin, psilocin, schizofrenie, změněné stavy vědomí, model akutní psychózy, fenomenologie, kvantitativní EEG.

Summary

The present thesis deals with the electrophysiological and behavioral correlates of the effects of serotonergic psychedelics in an animal model of psychosis. In the general part, we describe the phenomenology and neurobiology of psychotic diseases and the altered states of consciousness induced by serotonergic psychedelics. Furthermore, we outline the pharmacological models of acute psychosis with a focus on serotonergic substances, particularly the active substances from hallucinogenic mushroom – the indolamine psilocybin and its active metabolite psilocin. We briefly explain the method of quantitative electroencephalography (QEEG) and summarize the main findings of QEEG in animals and humans intoxicated by serotonergic psychedelics. The experimental part of the thesis describes the pharmacokinetics of psilocin, its effects on the behavioral pattern, locomotion and sensorimotor processing of information, as well as sex differences in the behavioral response. A medium dose of psilocin caused atypical behavioral figures, decreased locomotion and disturbance in sensorimotor processing of information, with the females being more resistant to this effect. Another focus of the thesis is the dynamics of QEEG changes in time (EEG absolute power spectra and EEG coherences), as recorded from the cortex of freely moving laboratory brown rats during behavioral inactivity resulting from intoxication by psilocin and other serotonergic hallucinogens. All serotonergic hallucinogens caused a decrease in the absolute EEG spectral power and a decrease in EEG coherences, more prominent in the lower frequency bands. Psilocin, apart from an overall decrease of EEG power, also effected a local increase of power in the theta and gamma bands in the temporoparietal region. Cluster analysis of EEG connectivity after psilocin found 4 independent connective networks. The thesis also describes the mechanisms of behavioral and QEEG changes using selective antagonists of serotonin receptors (5HT1A, 5HT2A, 5HT2B, 5HT2C) and certain antipsychotics (clozapine and haloperidol). Selective antagonists of 5HT receptors have a significant impact on the psychedelic effects induced by psychedelics (hypolocomotion, absolute EEG power, EEG coherences). Antipsychotics normalize absolute EEG power, but not psilocin-induced EEG disconnection. The final part of the thesis proposes the translational validity of the animal model of psilocin-induced psychosis by comparing animal data with data from human volunteers intoxicated by psilocybin, showing the same decrease in basal activity and disconnection. However, there are differences in the higher frequency bands.

Keywords: serotonergic hallucinogens, psychedelics, psilocybin, psilocin, schizophrenia, altered states of consciousness, model of acute psychosis, phenomenology, quantitative EEG.

Obsah

1. Literární přehled.....	8
1.1. Neurobiologie psychóz.....	8
1.2. Modelování psychóz	15
1.3. Základy elektrofyziologie	25
1.4. Vliv psychedelik na QEEG	27
2. Cíle a hypotézy disertační práce.....	29
3. Metodika.....	30
3.1. Experimentální zvířata a použité látky.....	30
3.2. Hodnocení farmakokinetiky psilocinu a psilocybinu.....	31
3.3. Hodnocení behaviorální aktivity	31
3.4. Kvantitativní elektroencefalografie.....	32
3.5. Statistické metody	36
4. Výsledky – serotonergní modely.....	37
4.1. Farmakokinetika psilocybinu a psilocinu.....	37
4.2. Behaviorální účinek psilocinu u laboratorního potkana.....	38
4.3. QEEG změny vyvolané serotonergními halucinogeny u laboratorního potkana.....	41
4.4. Translační validita serotonergního modelu – srovnání s humánními daty.....	60
5. Výsledky – komentář ostatních publikací	63
6. Diskuse	65
6.1. Hlavní nálezy.....	65
6.2. Výsledky farmakokinetiky	65
6.3. Behaviorální výsledky.....	66
6.4. Vliv psilocinu na QEEG ve srovnání s kontrolní skupinou	66
6.5. Srovnání vlivu serotonergních halucinogenů na QEEG	68
6.6. Normalizace QEEG změn indukovaných psilocinem.....	69
6.7. Translační validita serotonergního animálního modelu psychózy	71
7. Závěr.....	72
8. Reference.....	73
9. Přílohy	91
9.1. Celkový seznam publikací autora	91
9.2. Seznam přiložených publikací	93

1. Literární přehled

1.1. Neurobiologie psychóz

1.1.1. Spektrum psychotických onemocnění

Psychóza je obecně charakterizována narušením kontaktu s konsenzuální realitou (Forrest et al., 2014). Jedná se o soubor specificky lidských psychických poruch, ovlivňující abstraktní myšlení a další mozkové funkce, za jejichž neurobiologický korelát jsou považovány neuronální síť a vyšší asociační oblasti mozku, které jsou z evolučního hlediska plně rozvinuty až u lidí. V obecné psychopatologii je pak popsána narušením celé řady psychických funkcí – poruchy vnímání (sluchové halucinace, tzv. „hlasy“, tělové halucinace, zrakové halucinace), myšlení (inkoherece, bludná přesvědčení, abnormní asociace), emotivity (emoční labilita, inkontinence nebo naopak oploštělost) i kognice (postupný nárůst deficitu kognitivních funkcí u onemocnění procesuálního charakteru).

Psychózy jsou širokým okruhem diagnostických jednotek, které mají společnou fenomenologii (psychotické příznaky), liší se však etiopatogenezí i prognózou. U některých forem psychotických poruch (např. akutní polymorfní psychotická porucha, dekompenzace poruchy osobnosti) mají častou příčinu v okolním prostředí, u prognosticky závažnějších psychóz se uplatňují kromě faktorů prostředí do větší míry genetické a vývojové faktory. Patogenezi psychotických onemocnění lze popsat řadou neurovývojových (neurogeneze a synaptogeneze) a neurochemických (dopaminergní, serotonergní, glutamatergní, kanabinoidní) hypotéz, které budou rozebrány dále v textu. Psychotické poruchy léčí současná psychiatrie symptomaticky antipsychotiky, doposud neexistuje kauzální léčba.

1.1.1.1. Akutní psychóza

Za akutní psychózy označujeme poruchy s různě vyjádřenými psychotickými příznaky trvajících do 1 měsíce, okruh diagnóz z 10. revize Mezinárodní klasifikace nemocí (MKN-10) označené kódem F23.x. Symptomatika těchto onemocnění je velmi fluktuující, časté jsou halucinace (zrakové, sluchové, tělové), proměnlivé bludy, labilní emotivita, kognitivní příznaky bývají méně vyjádřeny (hypoprosexie) (Höschl et al., 2004). Klinický obraz závisí i na premorbidní osobnosti pacienta a částečně na formě spouštěcího faktoru. Etiologie akutních psychóz je velmi různorodá, mezi nejčastější spouštěče patří silný životní stres. Velmi často ale rozvoj psychóz indukují i omamné a psychotropní látky. Nejčastěji je to kanabis (marihuana a

nové syntetické kanabinoidy), následují stimulanty typu amfetaminů, podstatně vzácněji halucinogeny (LSD, mezkalin, psilocybin či ketamin). Ačkoliv psychoaktivní látky a psychofarmaka mohou být nespecifickým spouštěčem akutní psychózy, nejedná se o etiologické agens. Prognóza akutních psychotických atak je velmi různorodá, u části jedinců se rozvíjí ve schizofrenii či jinou poruchu z okruhu F2x, jindy lze uzavřít jako dekompenzaci poruchy osobnosti či dochází k plné remisi (Höschl et al., 2004).

1.1.1.2. Schizofrenie

Nejzávažnější formou psychotických onemocnění, která vede ke zhoršení kvality života až invalidizaci, je schizofrenie (kódy MKN-10 F20.x). Její prevalence 0,5-1% u populace nad 18 let je stabilní napříč celou lidskou populací v čase i prostoru (transkulturálně), častější výskyt se zdá být v urbanizovaných oblastech. Onemocnění začíná typicky v adolescenci a časně dospělosti (většinou do 28 let), s maximem výskytu 24 let u mužů a 27 let u žen. Symptomatiku schizofrenie lze dělit na pozitivní (halucinace, bludy, dezorganizované myšlení, stereotypie), negativní příznaky (př. apaticko-abulický syndrom, sociální stažení, afektivní oploštění), afektivní (úzkost, rozvoj depresivních příznaků, suicidální ideace) a kognitivní (hypoprosexie, poruchy paměti, deteriorace abstraktního myšlení). Typický průběh nejčastější formy schizofrenie, tzv. paranoidní schizofrenie, je akutní ataka (většinou iniciálně diagnostikována jako F.23.1 „akutní polymorfní psychotická ataka s příznaky schizofrenie“) následovaná opakovanými relapsy onemocnění, zejména pokud není dodržována farmakologická léčba. Zpočátku jsou vyjádřeny primárně příznaky pozitivní, postupně v průběhu onemocnění se vznikem trvalých strukturálních změn mozku (Höschl et al., 2004) se rozvíjí plíživě příznaky negativní, které většinou přetrvávají u chronických forem i v remisi. Dodnes není zcela jasné, zda strukturální změny mozku doprovázené negativními příznaky jsou následkem schizofrenie samotné či odrazem vlivu antipsychotické léčby. (Höschl et al., 2004) Etiologie schizofrenie je multifaktoriální, recentní teorie předkládá model dvou zásahů („two hit model“ (Höschl et al., 2004), kdy „první zásah“ neboli predispozice spočívá v genotypu či vlivu časného postnatálního vývoje (perinatální hypoxie, virový infekt, toxická noxa), „druhým zásahem“ jsou pak psychologické (stres) či jiné exogenní faktory (často drogy). Prognóza schizofrenního onemocnění závisí na celé řadě faktorů jako rychlosti diagnostikování, věk rozvinutí prvních symptomů, adherence k léčbě (náhled), výskyt negativních symptomů (negativní prognostický faktor), ale v obecné rovině je závažná a často vede k trvalé invalidizaci.

1.1.1.3. Změněné stavy vědomí

Akutní psychózy se fenomenologicky do značné míry podobají akutní intoxikaci halucinogeny, resp. nověji psychedeliky¹. Psychedelických látek existuje velké množství; mezi ty, u kterých jsou v současnosti vědecky zkoumány, patří klasické serotonergní halucinogeny² (LSD – N,N-diethylamid kyseliny lysergové, psilocybin, DMT - dimethyltryptamin, mezkalin), entaktogeny (MDMA – 3,4-methylendioxy-N-methylamfetamin), disociativní anestetika (ketamin) a některé další substance (ibogain, salvinorin A).

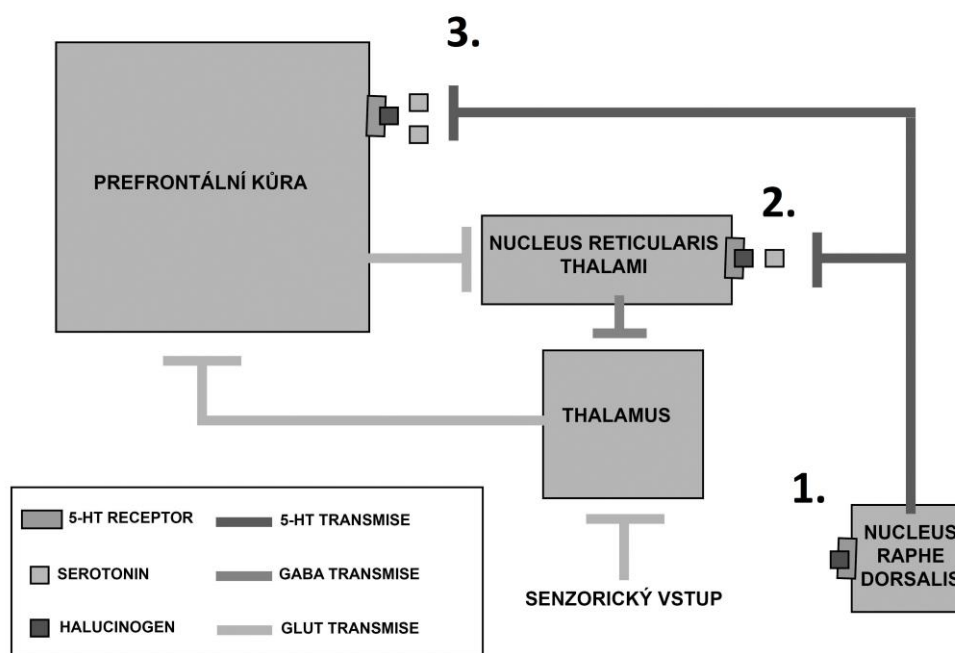
Psychedelika jsou látky, které mění vnímání, myšlení a emotivitu takovým způsobem, který zakoušíme v nepatologických podmínkách pouze ve snech či v průběhu náboženského vytržení či v rámci disociativních poruch (například dg. F.44.3. Trans a stavy posedlosti). Souhrnně se tyto příznaky, které zajišťují halucinogenům unikátní postavení v psychofarmakologii, označují pojmem změněný stav vědomí (Altered state of consciousness, ASC) (Nichols, 2016), který lze dobře popsat např. pomocí psychometrické škály ASCs (ASC scale) (Dittrich, 1998). Mezi hlavní příznaky ASC patří komplexní změny vnímání (halucinace, tzv. synesthesie (např. slyšení barev) a eidetismus (velmi živé představy)), poruchy myšlení (rozvolnění asociací, ztráta logiky) a značné zesílení emočního prožívání (jak pozitivních tak i negativních emocí). Neurobiologie účinků psychedelik je přiblížena na obr. 1. detailně popsána v příložené publikaci (Tylš, 2015). Další příložená publikace přibližuje psychologický rozměr změněných stavů vědomí v souvislosti s nevědomými procesy (Viktorinová a Tylš, 2016)³.

¹ Pojem psychedelika (z řeckého psychedelien – mysl zjevující) lépe vystihuje podstatu těchto látek. Z historického hlediska se však častěji v literatuře objevuje pojem halucinogeny, přesto, že je nepřesný (Viktorinová a Tylš, 2016). Psychedelika nezpůsobují právě halucinace, ty jsou charakteristické pro delirogeny (např. durman). V této práci jsou oba termíny používány recipročně.

² Klasické halucinogeny jsou halucinogeny vážící se na 5HT receptory (5-hydroxytryptamin, neboli serotonin) (Tylš et al., 2014).

³ ***Nevědomé procesy lidské mysli: poznatky z psychedelického výzkumu (Viktorinová a Tylš, 2016).***

Nevědomé procesy zůstávaly dlouhou dobu mimo pozornost neurovědčů pro svou obtížnou uchopitelnost a objektivizaci. Nyní se postupně stávají předmětem zkoumání v kognitivní neurovědě, která rozkrývá jejich důležitost při rozhodování či chování. Kognitivně – neurovědní výzkum však často opomíjí dynamiku nevědomých procesů, jejich afektivní náboj a subjektivní pohled prožívajícího člověka. Současné neurovědní experimenty s psychedeliky (výzkum změněných stavů vědomí navozený intoxikací halucinogeny) tyto aspekty zohledňují, když používají neurovizuální metody spolu se subjektivními výpověďmi účastníků a představují tak velmi slibný nástroj pro lepší porozumění nevědomým i vědomým stavům lidské mysli.



Obr. 1. Mechanismus účinku klasických psychedelik. Klasická psychedelika působí v lidském mozku na 5HT receptory především na 3 úrovních. 1. inhibiční působení na dorsální rafeální jádro, které je hlavním zdrojem 5HT pro mozkovou kůru. Toto inhibiční působení je jednak přímé (cestou presynaptických 5HT1A receptorů) a jednak nepřímé cestou 5HT2A receptorů na GABAergních interneuronech). 2. inhibice thalamu, která vede ke snížení jeho filtrační schopnosti. Odehrává se cestou agonismu 5HT2A receptorů na GABAergních interneuronech retikulárního jádra thalamu. 3. zvýšená excitabilita kortexu, konkrétně 5HT2A receptorů na glutamatergických pyramidových neuronech. Všechny 3 mechanismy jsou synergické, díky 1. nedochází ke kompetici s 5HT na synapsi, díky 2. k zahlcení kortexu informací a díky 3. k desinhibici kůry a změně poměru signál/šum. Převzato z (Tylš, 2015).

1.1.2. Etiopatogeneze psychózy

Etiopatogeneze psychotických onemocnění nebyla doposud dostatečně prozkoumána. Na patofyziologii psychóz se podílí narušení ve více úrovních – od narušené funkce receptorů, synapsí, neurochemických systémů až po narušení thalamokortikálních zpětnovazebných okruhů a dysfunkci komplexních neuronálních sítí. Moderní neurovývojová hypotéza schizofrenie předpokládá vliv genetických i epigenetických faktorů, které se kombinují v pre- i post-natálním vývoji mozku (Horacek, Bubenikova-Valesova et al., 2006).

V poslední době se v souvislosti s psychózou velmi často mluví o neuroplasticitě. Vyvíjející se nervové buňky se diferencují a spoje mezi nimi se dynamicky proměňují (neuroplastické změny), dokonce i v dospělém mozku vznikají nové neurony v hipokampu

(neurogeneze). Porucha diferenciacie neuronů nebo vzájemných spojení mezi nimi (synaptogeneze), zejména v oblastech reprezentujících vyšší mozkové funkce (např. frontální kůra, přední cingulum), může stát za rozvojem psychotických příznaků. Za kritickou periodu pro vznik těchto defektů se pokládá období adolescence, kdy dochází k tzv. pruningu (prořezání), tj. redukci synaptických spojení za účelem zefektivnění funkce neuronových sítí. Tyto teorie jednak vysvětlují nejčastější rozvoj schizofrenie kolem 18. roku věku (po dokončení pruningu), ale také fakt, že se jedná o typicky lidské onemocnění (postižení sítí reprezentujících vyšší mozkové funkce jako je řeč, abstrakce, vědomí) (Feinberg, 1990; Keshavan et al., 1994).

V rámci této práce se zaměřím především na neurochemické hypotézy a na poruchu funkční konektivity mozku, protože jsou relevantní pro farmakologické modelování psychózy, kterým jsem se ve své práci věnoval.

1.1.2.1. Neuroanatomický a funkční podklad psychózy

V patofyziologii psychotických onemocnění hrají významnou roli následující anatomické struktury: frontální a temporální kůra, přední cingulum, hipokampus, amygdala a insula. Bylo zjištěno, že funkční rozpojení těchto oblastí je pravděpodobně podkladem symptomatologie schizofrenního onemocnění a schizofrenie tak začala být pojímána jako diskonekční syndrom (Canu et al., 2015; Di et al., 2009; Friston, 1999; Friston a Frith, 1995; Lieberman et al., 2008; Pettersson-Yeo et al., 2011; Woo, 2014). Nejtypičtějším nálezem u psychózy je fronto-temporální diskonekce (Horacek, Dockery et al., 2006), která může vysvětlit vznik příznaků prvního řádu, jako jsou sluchové halucinace (rozpojení motorického a sensorického řečového centra) (Ford a Mathalon, 2005).

Novější koncepty chápou schizofrenii jako dysfunkci specifických funkčních celků mozku – 3 hlavních neuronálních sítí (Nekovarova et al., 2014). Jednou z nejdůležitějších je tzv. defaultní síť mozku (DMN) (Raichle et al., 2001), která je aktivní v klidovém stavu či při introspekci. Skládá se z oblastí mediální frontální kůry, zadního cingula (PCC), precuneu, mediálního temporálního laloku a spodního parietálního laloku. Přítomnost této sítě byla prokázána i v mozku potkana (Lu et al., 2012; Sierakowiak et al., 2015). Další hlavní sítí je centrální exekutivní síť (CEN), která je aktivní v průběhu zaměřené pozornosti. Patří do ní oblast dorsolaterální prefrontální kůry a zadní parietální kortex. Třetí důležitou sítí, která přepíná mezi sítěmi DMN / CEN je salientní síť (SN), do které patří oblast předního cingula a insula. Funkcí této sítě je přiřazovat význam jednotlivým informacím určeným ke zpracování kůrou, tedy upravovat poměr signálu vůči šumu (kontrastovat informaci). Alternace DMN / CEN je přítomna za většiny fyziologických podmínek, narušená je mimo jiné právě u psychózy

či intoxikace psilocybinem (Carhart-Harris et al., 2013). Odlišné přepínání sítí DMN a CEN vede k narušení řady mozkových funkcí, které jsou typicky vyjádřeny u schizofrenie (Menon, 2011) jako je dezinterpretace vnitřních stimulů jako vnějších, změně v sociální kognici a empatii (teorie mysli) (Nekovarova et al., 2014).

1.1.2.2. Neurochemie psychózy

Vysvětlení symptomů psychóz pomocí neurochemické dysbalance vznikalo s rozvojem experimentálních psychóz s využitím amfetaminů a halucinogenů (Hoch et al., 1952; Hollister a Sjoberg, 1964). V roce 1952 se začalo používat první antipsychotikum chlorpromazin (původně připraveno jako antihistaminikum). Jeho později objevená afinita k D2 receptorům (Sedvall a Farde, 1995), dala podklady pro vznik dopaminergní teorie schizofrenie.

Dnes existují 3 hlavní teorie vysvětlující neurobiologii psychózy – dopaminergní, serotonergní a glutamatergní (Bubenikova-Valesova et al., 2008; Horacek, Bubenikova-Valesova et al., 2006). Jsou postaveny na skutečnosti, že stimulanty (např. amfetamin, kokain), serotonergní halucinogeny (např. LSD a psilocybin) a disociativní anestetika (např. ketamin nebo fencyklidin) mohou indukovat některé symptomy psychóz (Horacek, Bubenikova-Valesova et al., 2006). Platnost serotonergní a dopaminergní hypotézy podporují antidopaminergní a antiserotonergní účinky první a druhé generace antipsychotik. Na rozdíl od stimulantů a halucinogenů, které modelují pozitivní příznaky psychózy, disociativní anestetika způsobují také negativní a kognitivní příznaky psychóz. Tyto látky blokují NMDA receptory na GABAergních interneuronech kůry a zpětnovazebně způsobují větší uvolňování glutamátu na synapsích pyramidových neuronů kůry. V souladu s tím je schizofrenie chápána jako hyperglutamatergní stav s dysfunkcí NMDA receptoru (Carlsson et al., 2001).

Dnes máme za to, že podkladem psychotických onemocnění je dysbalance všech těchto neurotransmiterových systémů, nově se objevují též teorie o dysbalanci systému kanabinoidního. Podrobně se budu věnovat neurochemickým teoriím v rámci popisu jednotlivých farmakologických modelů psychózy.

1.1.3. Funkční nálezy u psychóz a jim podobných stavů

U pacientů se schizofrenií byla popsána řada změn na úrovni struktury mozku, které jsou často následkem chronifikace onemocnění (rozšíření komorového systému, atrofie frontální kůry, přestavba limbického systému, změny v bílé hmotě) (Andreasen et al., 1994; Höschl et al., 2004). Nálezy z moderních metod funkčního zobrazení mozku (fMRI, SPECT, PET, MEG, metody QEEG – viz dále) nám umožňují lépe popsat počátek patologie

schizofrenního onemocnění, stejně jako změněný stav vědomí způsobený intoxikací psychedeliky (tj. model akutní psychózy), proto se na ně v této kapitole zaměřím.

Elektroencefalografická aktivita u pacientů se schizofrenií odhaluje zvýšení výkonu v pomalejších frekvenčních pásmech (delta, theta) a jeho snížení ve vyšších frekvencích (beta, gama). Výsledky EEG studií u pacientů jsou však často ovlivněny nehomogenitou onemocnění a především medikací. Analýza EEG konektivity u pacientů se schizofrenií zatím nepřinesla jednoznačné výsledky, některé studie popisují zvýšení (především inter-hemisferálních koherencí), jiné snížení konektivity (především intra-hemisferálně) (Brunovský, 2004). QEEG nálezy indukované psychedeliky v animálním i humánním modelu budou pak popsány v separátní kapitole 1.4.

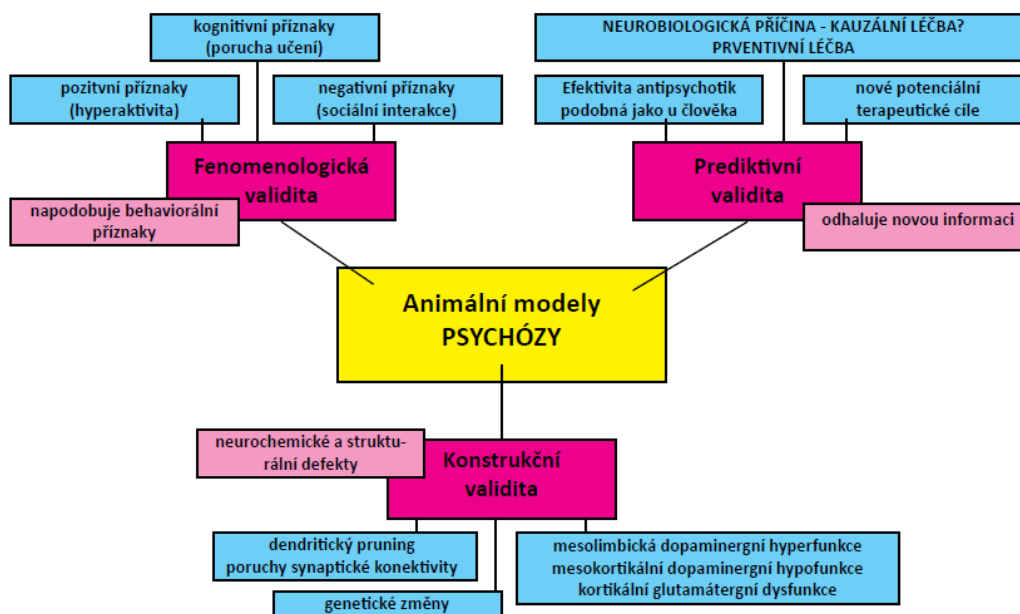
V průběhu akutních psychóz bývá nejčastěji popisováno zvýšení mozkové perfúze (měřeno fMRI) a zvýšení metabolického obratu mozkové tkáně (měřeno konsumpcí fluorodeoxyglukózy) především v oblastech frontální a temporální kůry a bazálních ganglií. Sluchové halucinace byly spojeny se zvýšením metabolické aktivity temporálních oblastí (Andreasen et al., 1992; Buchsbaum et al., 1992; Kaplan et al., 1993; Kopeček, 2002). Podobně v modelu psychózy s využitím psilocybinu na lidských jedincích došlo v PET ke zvýšení metabolického obratu ve fronto-temporálním kortexu a předním cingulu a naopak snížení metabolismu thalamu (Vollenweider et al., 1997). Jiná studie s psilocybinem potvrdila hypermetabolismus v oblasti frontální kůry a předního cingula, dále našla zvýšený metabolismus v insule a do menší míry i v parietální kůře a thalamu (Gouzoulis-Mayfrank et al., 1999). Nálezem, který je společný pacientům se schizofrenií (Goldman-Rakic a Selemon, 1997), akutní psychózou i zdravým jedincům pod vlivem klasických psychedelik (Gouzoulis-Mayfrank et al., 1999; Vollenweider a Geyer, 2001) je změněná aktivita thalamu odrážející jeho dysfunkci. Thalamus je hlavním informačním filtrem pro kůru a jeho filtrační schopnost je částečně deaktivována psychedeliky cestou zmíněných 5HT_{2A} receptorů na GABAergních interneuronech retikulárního jádra (viz obr. 1).

V kontrastu se zmíněným hypermetabolismem v modelu psychózy s využitím psilocybinu je studie dr. Carharta Harrise, která popsala snížení průtoku krve (ASL) a BOLD signálu ve fronto-temporo-parietálních asociačních oblastech kůry, středočárových oblastech kůry (precuneus, přední a zadní cingulum), thalamu a některých subkortikálních oblastech. Navíc autoři zjistili, že snížená aktivita mediální prefrontální kůry a předního cingula stejně jako konektivita hlavních uzlů DMN pozitivně koreluje se subjektivními účinky psilocybinu (Carhart-Harris et al., 2012). Jiná humánní studie s psilocybinem se zaměřila přímo na měření mozkové aktivity s použitím MEG a pozorovala snížení oscilačního výkonu napříč celým

spektrům s nejintenzivnějšími změnami v alfa pásmu v oblastech zadního cingula a dalších oblastí DMN (Muthukumaraswamy et al., 2013). Za hypermetabolismus na jedné straně a snížený oscilační výkon na straně druhé může odpovídat zvýšená aktivita, avšak desynchronizovaných pyramidových neuronů hlubokých vrstev kůry. Detailní diskuse k těmto rozporuplným výsledkům fMRI a PET viz kap 9. příloženého review (Tyls et al., 2014). Tým dr. Carharta-Harrise nedávno provedl další studii s použitím LSD v kombinaci dvou zobrazovacích metod (fMRI a MEG). LSD způsobilo výrazné zvýšení průtoku a snížení oscilačního výkonu v pásmu alfa ve zrakové kůře, které souviselo se zrakovými halucinacemi. LSD navíc zvyšovalo konektivitu zrakové kůry s dalšími mozkovými oblastmi, což nasvědčuje tomu, že v průběhu psychedelické zkušenosti je zapojena do zpracování zrakové informace mnohem větší část mozku, než při běžném vědomí. Dalším nálezem studie bylo snížení integrity DMN sítě. Snížená fMRI konektivita parahipokampálního laloku se zbytkem mozku, stejně jako snížení MEG aktivity zadního cingula, korelovalo s prožitky rozpouštění hranic ega extrahovanými ze škály ASCS (Carhart-HarrisMuthukumaraswamy et al., 2016).

1.2. Modelování psychóz

K modelování specificky lidských duševních poruch využíváme humánní, ale i animální modely. Smysl animálních modelů psychózy spočívá především v dokonalejším porozumění etiopatogeneze psychotických onemocnění, které ve svém důsledku může vést k vývoji nových terapeutických postupů a díky tomu až ke zkvalitnění péče o duševní zdraví pacientů (Forrest et al., 2014). Modely psychóz by měly do různé míry splňovat 3 úrovně validity – fenomenologickou, prediktivní i konstruktivní (obr. 2).



Obr. 2. Úrovně validity animálních modelů psychózy. Upraveno dle (Jones et al., 2011).

1.2.1. Farmakologické animální modely psychóz

Studium farmakologicky navozených experimentálních psychóz / změněných stavů vědomí nám umožňuje poznat lépe neurobiologii psychotického stavu, ale i funkci mozku a podstatu našeho vědomí vůbec. Z klinického hlediska umožňují testování antipsychotik a studium neurobiologie jejich účinku. Modelovat psychotické onemocnění můžeme na zdravých lidských subjektech a do jisté míry i na jiných živočišných druzích včetně laboratorního potkana. Omezení animálních modelů jsou méně vyvinuté vyšší mozkové funkce, které psychóza jako typicky lidské onemocnění postihuje. V případě animálních farmakologických modelů se tedy jedná vlastně o dva stupně aproximace. První je předpoklad, že akutní psychóza se fenomenologicky podobá akutní intoxikaci psychotomimetickou látkou (tj. látkou působící stav podobný psychóze, může jí být např. halucinogen či stimulant). Tento stupeň aproximace budu demonstrovat v závěru práce našimi experimentálními daty (humánní serotonergní model psychózy). Druhý je potom předpoklad, že intoxikace halucinogenem u lidí lze do určité míry připodobnit intoxikaci laboratorního potkana stejnou látkou (v této práci animální serotonergní model psychózy). Míru této aproximace lze hodnotit pomocí behaviorálních vzorců potkana, neurochemických metod (např. mikrodialýza) nebo elektrické aktivity jeho mozku (hodnocené metodami kvantitativního EEG). Mezi často hodnocené behaviorální parametry u psychóz patří prepulzní inhibice (PPI), latentní inhibice, stereotypie (např. tzv. “head twitch response” (charakteristické třepání hlavou)) či hyperaktivita. Z elektrofyziologických parametrů jsou nejčastěji hodnoceny klasické frekvenční a amplitudové

změny, evokované potenciály (Forrest et al., 2014), EEG spektrální výkon a míra funkční konektivity, např. EEG koherence (Palenicek et al., 2013).

Akutní farmakologické animální modely psychózy splňují do různé míry všechny 3 úrovně validity. Na základě fenomenologické validity našich modelů jsme mohli hodnotit behaviorální a elektroencefalografické změny, proto bude rozebrána detailněji. Prediktivní validita má především využití pro sledování a predikci účinku antipsychotik. Ve spojení s moderními zobrazovacími metodami můžeme také studovat roli jednotlivých mozkových struktur a neuronálních sítí (konstruktivní validita) (Jones et al., 2011). Díky silné translační validitě prepulzní inhibice a všech elektroencefalografických metod můžeme srovnávat nálezy v animálních modelech s nálezy u lidí.

Ačkoliv experimentální zvířata pod vlivem psychoaktivních látek nehalucinují tak jako lidé ani nemají stejně hodnotitelný kognitivní deficit, předpokládáme, že to, co se děje ve zvířecích systémech, má vždy do určité míry paralelu tomu co se děje u člověka. Primáti, kteří jsou člověku evolučně výrazně bližší než potkani, vykazovaly pod vlivem halucinogenů chování, které je možné nepřímo interpretovat jako reakci na narušenou percepci reality (chytání neviditelných objektů) (Fantegrossi et al., 2004; Nichols, 2016). Metodika na objektivizaci halucinací u zvířat doposud vyvinuta nebyla, ale je jedním z cílů naší laboratoře se tímto směrem v budoucnosti zaměřit. Různá laboratorní zvířata jsou však vhodná pro různé druhy úloh. Zatímco myši nám umožňují lépe studovat receptorové mechanismy díky možnosti manipulovat s genotypem (knock-outy receptorů), potkani jsou vhodnější pro některé behaviorální úlohy či EEG experimenty (větší plocha kůry). Víme také, že laboratorní potkan je podobnější odpovědí na psychedelické látky reakcím člověka než myš (Nichols, 2016). Dokonce lze na základě behaviorální reakce potkana, která je fenomenologicky podobná reakci na známá psychedelika, odhadnout, zda se jedná o látku s potenciálně psychedelickými účinky či nikoliv (Nichols, 2016).

Psychotomimetické látky často vyvolávají změnu v behaviorální aktivitě jak z hlediska kvantity (např. zvýšená či snížená lokomoce), tak i z hlediska struktury (jiné zastoupení různých typů chování, změna habituace, explorace, atypické behaviorální vzorce apod.). Za normálních okolností potkan po umístění do otevřeného pole exploruje periferní části arény (vztyčování a čenichání) a teprve později se odváží explarovat střed otevřeného pole, poté se uchýlí opět do periferie a věnuje se vzorcům chování jako je např. grooming (čištění) – známka habituace (Eilam a Golani, 1989; Golani et al., 1993; Lat, 1973). Dezorganizace tohoto chování ve smyslu hyperlokomoce, úbytku habituace a výskytu nových stereotypních figur chování pod vlivem psychotomimetika se považuje za model pozitivních příznaků psychózy (dezorganizace

chování a stereotypie). Psychotomimetické látky vedou ke změně ve zpracování informací, která vede v konečném důsledku k narušené schopnosti přiřazovat význam podnětům a k zahlcení nevýznamnými stimuly (snížení poměru signál / šum) (Braff et al., 2001). Tento jev lze měřit např. testem prepulzní inhibice úlekové reakce, jejímž principem je hodnocení motorické odpovědi v důsledku úlekové reakce na silný podnět. Pokud je hlavnímu podnětu (pulzu) předřazen o několik milisekund těsně nadprahový předpodnět (prepulz), je celková motorická odpověď snížena. Jedná se o evolučně starou reakci a lze hodnotit téměř shodně u různých živočišných druhů včetně člověka a laboratorního potkana. Kognitivní deficit lze modelovat deficitem výkonu potkana v úlohách zaměřených na různé druhy paměti.

1.2.2. Farmakologické modely psychóz dle ovlivněného systému

Jelikož se na patogenezi psychotických onemocnění podílí celá řada neurotransmiterových systémů, není překvapivé, že k experimentálnímu navození akutní psychózy se používají látky různorodých psychofarmakologických skupin. Obecně tyto látky označovala psychotomimetika (psychózu – navozující). Řadíme sem látky dopaminergní (např. amfetamin, metamfetamin), serotonergní (LSD, psilocybin, mezkalin, DMT, nové syntetické preparáty jako např. 2C-B (4-bromo-2,5-dimethoxyfenylethylamin)), glutamátergní (fencyklidin, ketamin, látka MK-801) a nově také kanabinoidy jako THC (delta-9-tetrahydrokannabinol). Psychotomimeticky působí také látky ovlivňující jiné neuropřenašečové systémy – např. ibogain (ovlivňující opioidní, NMDA a 5HT receptory), salvinorin A (opioindní κ receptory) či delirogeny (antagonisté muskarinových receptorů). Tyto látky se v modelování psychóz používají ojedinele z důvodu jejich nízké konstrukční validity (nemáme neurochemické teorie psychózy postavené na ovlivnění těchto systémů). V současnosti používaná psychotomimetika lze rozdělit tedy do 4 farmakologických skupin:

1. Stimulanty – dopaminergní agonisté
2. Klasická psychedelika – indolaminy a fenylethylaminy – 5HT agonisté
3. Disociativní anestetika – antagonisté glutamátergního NMDA receptoru
4. Kanabinoidy – zejména agonisté CB1 receptoru

V následujícím textu budou zmíněny farmakologické modely psychózy, zaměřím se především na model serotonergní, který má přímý vztah k výsledkům této disertační práce.

1.2.2.1. Dopaminergní modely

Dopaminergní modely jsou založeny na původní dopaminergní hypotéze schizofrenie, předpokládající korelaci pozitivních příznaků s hyperdopaminergním stavem v mesolimbické dráze mozku (Carlsson, 1995; Seeman, 1987). Tyto modely napodobují především pozitivní symptomatiku psychózy. Nejčastěji se k jejich modelování používají stimulanty (dopaminergní agonisté) amfetamin, metamfetamin, kokain či apomorfin. U zvířat vede hyperdopaminergní stav k hyperlokomoci, výskytu stereotypií a často také k narušenému zpracování informace či deficitu v kognitivních úlohách (Sills et al., 1998; Swerdlow a Geyer, 1998; White et al., 2006). Tyto změny je možné normalizovat typickými i atypickými antipsychotiky, jejichž společným mechanismem účinku je blokáda dopaminergních D2 receptorů (Seeman, 1987; Swerdlow a Geyer, 1998).

1.2.2.2. Serotonergní modely

Serotonergní modely psychóz jsou postaveny na podobnosti intoxikace serotonergními halucinogeny s akutní psychózou. Navzdory silné fenomenologické validitě serotonergního modelu psychózy jsou psychedelika spouštěčem akutních psychóz jen velmi vzácně (viz výše). Změny vyvolané serotonergními halucinogeny jsou velmi komplexní, ovlivňují vyšší korové funkce člověka a proto je nelze kompletně modelovat na evolučně nižších druzích. 5HT_{2A} receptor, který je zodpovědný za jejich psychedelický účinek (viz dále), má velmi důležitou roli ve fyziologii mozku u všech savců a behaviorální odpověď na jeho aktivaci je měřitelná mezidruhově. Další receptory, u kterých se předpokládá významná role v psychedelickém účinku (5HT_{1A}, mGlu₂), sehrávají taktéž zásadní roli ve fyziologii nižších savců (Nichols, 2016).

1.2.2.2.1. Humánní serotonergní model psychózy

Historie serotonergních modelů psychózy sahá do počátku 20. století, kdy český psychiatr Světozar Nevole zkoumal účinky mezkalinu (Nevole, 1947). Po objevu LSD (Hofmann a Ott, 1980) v průběhu 40. let se výzkum modelových psychóz začal rozvíjet. V 50. letech 20. století se používala serotonergní psychedelika (LSD a psilocybin) výzkumně na lidských subjektech - dobrovolnících (mnozí z nich byli sami lékaři a psychologové, tzv. auto-experimenty), ale i pacientech trpících schizofrenií. Přitom jednou z hlavních bašt tohoto výzkumu bylo právě bývalé ČSSR (Hausner, 2016; Roubicek a Srnec, 1955; Tylš, 2015; Winkler a Csemy, 2014). Výzkum byl v té době zaměřen především klinicky a charakterizovala ho značná metodická nepřesnost. Od zákazu výzkumu halucinogenů v 70. letech pokračovaly

již jen v zahraničí animální studie, které využívaly psychedelik jako modelů psychóz. V 90. letech minulého století se výzkum psychedelik opět rozvíjí a objevují se metodicky vyspělejší studie hodnotící serotonergní modely psychózy (Carhart-Harris et al., 2012; Tyls et al., 2014; Vollenweider a Geyer, 2001; Vollenweider et al., 1998; Winkler a Csemy, 2014).

V poslední době nabývá na významu především psilocybin pro jeho optimální farmakologické vlastnosti a jeho terapeutický potenciál popsany řadou recentních vědeckých studií. Pro aktuálnost problematiky psilocybinu jsem se na něj zaměřil i v této disertační práci. Přiložené review detailně popisuje psychofarmakologii psilocybinu a charakterizuje jeho terapeutický potenciál (Tyls et al., 2014)⁴, recentnější přehledový článek (Tylš, 2015)⁵ je potom shrnutím nejnovějších poznatků o známých a hypotetických mechanismech terapeutického potenciálu psilocybinu.

1.2.2.2.2. Animální serotonergní model psychózy

Nejčastěji je v animálních modelech používán agonista 5HT_{2A/2C} receptoru DOI (4-iodo-2,5-dimethoxyamfetamin) z důvodu jeho snadné dostupnosti pro výzkumníky (není zařazen na seznam kontrolovaných látek Schedule I) (Nichols, 2016). Mezi další často používané látky v animálních experimentech patří LSD, psilocybin a mezkalin. Z nových syntetických serotonergních psychedelik se častěji v animálním modelu používají také 2C-B, DOB (4-bromo-2,5-dimethoxyamfetamin) a DOM (4-metyl-2,5-dimethoxyamfetamin).

⁴ ***Psilocybin - summary of knowledge and new perspectives. (Tyls et al., 2014)***

Psilocybin, psychoaktivní alkaloid obsažený v halucinogenních houbách, je dnes v popředí zájmu vědecké komunity jako výzkumný nástroj k modelování psychózy stejně tak jako potenciální terapeutické agens. Je také velmi oblíbeným a často užívaným přírodním halucinogenem. Tento přehledný článek shrnuje minulé a současné poznání o psilocybinu. Krátce pojednává o jeho historii, diskutuje farmakokinetiku a farmakodynamiku a srovnává jeho účinek na lidi a na zvířata. Pokouší se popsat neurobiologický mechanismus psychedelického účinku a dokumentovat ho popisem studií využívajících moderní zobrazovací a psychometrické metody. Na závěr popisuje potenciál zneužití a terapeutického využití.

⁵ ***Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. (Tylš, 2015)***

Serotonergnímu halucinogenu psilocybinu je věnována značná pozornost pro možnost jeho použití na poli klinické i experimentální psychiatrie, adiktologie i neurologie. Text popisuje historii používání této látky a uvádí souhrn poznatků vzešlých z recentně provedených studií zaměřených na psychologické a biologické hledisko účinku psilocybinu využitelné v terapeutických indikacích. Dále se soustředí na vztah jeho psychotomimetických a terapeutických účinků, který je rámován konceptem entropického mozku.

Mezi dva hlavní behaviorální parametry studované v modelu psychózy u laboratorního potkana patří lokomoční aktivita a PPI úlekové reakce. 5-MeO-DMT snížilo lokomoční aktivitu, explorační chování a čas strávený v centru otevřeného pole u laboratorního potkana a zároveň narušilo PPI úlekové reakce. Všechny tyto účinky bylo možné zablokovat antagonistou 5HT1A receptoru (WAY100635), 5HT2A antagonistou (MDL100907) neměl na tyto parametry žádný efekt a 5HT2C (SER-082) antagonistou zablokoval pouze změny v PPI (Krebs-Thomson et al., 2006). Autoři uvádějí, že v předchozích studiích bylo pozorováno snížení lokomoce, explorační aktivity a času v centru arény po fenyletylaminech mediované pouze 5HT2A receptory, zatímco po LSD byla indukována hypolokomoční aktivita 5HT1A receptory a snížená explorační aktivita 5HT2A receptory. Deficit v PPI indukovaný psychedeliky byl pozorován jak u zvířat (Johansson et al., 1995; Padich et al., 1996; T. A. Sipes a Geyer, 1994), tak u lidí (Vollenweider et al., 2007). Antagonisté 5HT2A receptoru ketanserin (T. A. Sipes a Geyer, 1994) a MDL100907 (T. E. Sipes a Geyer, 1995) normalizovaly narušenou PPI po DOI, zatímco antagonistou 5HT2C (SER-082) neměl žádný účinek (T. E. Sipes a Geyer, 1995). Podobně také PPI narušené LSD bylo normalizováno pouze antagonistou 5HT2A receptoru (MDL100907), nikoliv antagonisty 5HT1A, 5HT2B/C, 5HT6, ani dopaminergním antagonistou haloperidolem (Ouagazzal et al., 2001). Nehalucinogenní lisurid také narušil PPI potkanů, ovšem to nebylo možné normalizovat antagonistou 5HT2A receptoru (MDL11939), ale pouze dopaminergním antagonistou raklopridem (Halberstadt a Geyer, 2010). DOI navozený deficit v PPI byl dále zmírněn agonistou mGlu2/3 receptorů (LY379268) (Wischof et al., 2012). Serotonergní psychedelika mají také vliv na kognitivní funkce – psilocin snižoval výkon potkana v úlohách zaměřených na paměť (Rambousek et al., 2014).

1.2.2.2.3. Účinek serotonergních psychedelik na receptorové úrovni

Za psychedelický účinek halucinogenů je odpovědný agonismus či parciální agonismus k 5HT2A receptoru (Nichols, 2016). Bylo ukázáno, že 5HT2 antagonistou ketanserin blokoval u potkanů diskriminaci psychedelik (Glennon et al., 1984) a u lidí subjektivní účinek (Vollenweider et al., 1998). Dokonce bylo prokázáno, že subjektivní účinek psilocybinu přímo koreloval s vazebným potenciálem 5HT2A v předním cingulu a mediální prefrontální kůře (Quednow et al., 2012). Dále ketanserin ovlivnil sensorimotorické zpracování informace (Quednow et al., 2012), či elektrofyziologické koreláty účinku jako parieto-okcipitální pokles alfa oscilací a evokovaný potenciál N170 (Komter et al., 2013). Pro ovlivnění vnímání cestou 5HT2A receptoru svědčí dále i to, že ketanserin blokoval halucinace u pacientů s Parkinsonovou chorobou (Huot et al., 2010). Myši s knock-outovaným genem pro 5HT2A

receptor nevykazovaly “head twitch response” (typickou reakci pro stimulaci 5HT_{2A} receptorů) (Halberstadt et al., 2011).

Ačkoliv funkční selektivita psychedelik pro 5HT_{2A} již byla prokázána, dlouho nebylo jisté, proč agonista 5HT_{2A} receptoru lisurid nemá halucinogenní účinky. Výsledky dosavadních prací naznačují odlišnou aktivitu na úrovni transkripce časných genů. Dosud není jisté, která intracelulární kaskáda následující aktivaci tohoto receptoru je pro psychedelika nejrelevantnější. Po aktivaci 5HT_{2A} receptoru dochází k aktivaci kaskády fosfolipázy C (inositol-3-fosfát a diacylglycerol) a fosfolipázy A₂ (arachidonové kyseliny). Psilocin má například zhruba 30x větší aktivitu na fosfolipáze A₂ (Nichols, 2016). Na druhou stranu, ke komplexnímu účinku psychedelik mohou přispívat i další serotoninové receptory, ke kterým mají silnou afinitu (Ray, 2010; Tyls et al., 2014). V případě tryptaminů přispívá velkou měrou agonismus presynaptických (nucleus raphe) a postsynaptických 5HT_{1A} receptorů. Antagonista tohoto receptoru blokoval snížení lokomoce a behaviorální vzorec myši indukovaných tryptaminů (Halberstadt et al., 2011). Všechna serotonergní psychedelika mají aktivitu kromě 5HT_{2A} také na receptorech 5HT_{2C}, které slouží často opačné funkci a proto se předpokládá, že jsou příčinou dávkově nelineárního efektu halucinogenů v případě “head twitch response” či lokomoce (Nichols, 2016).

Serotonergní psychedelika mají slabší afinitu i k receptorům a přenašečům jiných neurotransmiterových systémů, případně je ovlivňují sekundárně (Ray, 2010). Jedním z těch, jehož ovlivnění psychedeliky je významné, je systém dopaminergní. LSD má na rozdíl od většiny jiných klasických psychedelik dokonce přímou afinitu k dopaminergním D₂-like receptorům (D₂, D₃, D₄) (Ray, 2010), čehož nepřímým důkazem je např. fakt, že v mozcích prasat vytěsnilo ligandy D_{2/3} receptorů (Minuzzi et al., 2005). K pozdnímu hyperlokomočnímu účinku LSD (90. minuta u potkanů) významnou měrou přispívají receptory D₄ (Marona-Lewicka a Nichols, 2009; Nichols, 2016). Dalším systémem, který je psychedeliky zasažen, je systém glutamatergní. Serotonin i halucinogen DOI aktivoval glutamatergní neurony, přičemž tento účinek byl blokován antagonistou 5HT_{2A} receptoru či agonistou kainátových glutamatergních receptorů (Aghajanian a Marek, 1997; Marek et al., 2000; Scruggs et al., 2003). Jedním z možných vysvětlení by mohlo být spřažení 5HT_{2A} a mGlu receptorů (tzv. heterodimery) (Gonzalez-Maeso et al., 2008), ačkoliv problematrická je jejich odlišná lokalizace na presynaptické (mGlu_{2/3}) a postsynaptické (5HT_{2A}) membráně a jejich existence byla recentně kritizována (Delille et al., 2013).

1.2.2.2.4. Animální serotonergní model schizofrenie

Na základě pozdního účinku LSD byl vytvořen první model „chronické psychózy“, založený na chronickém podávání LSD (Marona-Lewicka et al., 2011), který by mohl lépe modelovat onemocnění schizofrenií než akutní modely. Validitu tohoto modelu dokládá jednak trvale změněný behaviorální vzorec těchto potkanů, jednak změny v expresi genů, které se podílejí na patofyziologii schizofrenie (geny pro D1R, D2R, BDNF, erbB-4, podjednotky NMDA a GABA receptorů) v prefrontální kůře potkanů (Martin et al., 2014).

1.2.2.3. Glutamatergní modely

Glutamatergní modely jsou založeny na pojetí psychózy jako hyperglutamatergního stavu s dysfunkcí NMDA receptorů na parvalbumin pozitivních GABA interneuronech kortexu (Krystal et al., 2003; Krystal et al., 1994; Lisman a Buzsaki, 2008). Jako modelové substance se používají nekompetitivní antagonisté glutamatergního NMDA receptoru PCP, ketamin, MK-801. Výhodou těchto modelů je, že napodobují nejen pozitivní, ale i negativní příznaky psychózy (Jentsch a Roth, 1999). U lidských dobrovolníků ketamin vyvolává snové stavy a prožitky ztráty tělesných hranic, depersonalizace a derealizace, změnu vnímání prostoru a času, poruchy myšlení, halucinace a katatonní příznaky (Krystal et al., 1994). U zvířat v subanestetických dávkách vyvolávají silnou hyperlokomoci a celkovou dezorganizaci pohybu, stereotypie, narušené zpracování informací, poruchy sociálního kontaktu (Bubenikova-Valesova et al., 2008; Bubenikova et al., 2004; Jentsch a Roth, 1999). Výsledky zobrazovacích studií našly metabolickou hyperfrontalitu jak u lidí (mediální i dorsolaterální prefrontální kůra, orbitofrontální kůra) (Khalili-Mahani et al., 2015), tak u zvířat (Dawson et al., 2013). Konektivita po ketaminu byla zvýšena v klidovém stavu s převahou frontálně, naopak v průběhu aktivačních úloh docházelo ke snížené aktivaci a snížení konektivity dorsolaterální prefrontální kůry s jinými mozkovými oblastmi (Anticevic et al., 2015; Dandash et al., 2015; Driesen et al., 2013). V QEEG ketamin zvyšuje výkon v pásmu gama (tzv. gama oscilace) a snižuje konektivitu u lidí i u zvířat (Fujakova et al., 2014; McNally et al., 2011; Tyls et al., 2012).

1.2.2.4. Kanabinoidní modely

Kanabinoidní systém ve vztahu k psychotickým onemocněním popisuje přiložená přehledná publikace (Nováková, 2014)⁶. Tento relativně recentní model psychózy se opírá především o prokázání zvýšeného rizika psychotických poruch u chronických uživatelů konopí (Andreasson et al., 1987; Arseneault et al., 2002; Ferdinand et al., 2005; Henquet et al., 2005). Hlavní psychoaktivní látka obsažená v konopí, THC, vedla k signifikantnímu nárůstu pozitivních příznaků psychózy (desorganizace myšlení, paranoidita, ztráta náhledu) u zdravých dobrovolníků (Bhattacharyya et al., 2009; Bhattacharyya et al., 2010; Borgwardt et al., 2008; D'Souza et al., 2004; Fusar-Poli et al., 2009). Za psychoaktivní účinek THC jsou zodpovědné především CB1 receptory, které se vyskytují zejména na presynaptických zakončeních excitačních a inhibičních neuronů (Fowler et al., 2005). Jejich distribuce v mozku je ubikviterní s maximem v oblastech v čichovém mozku, limbickém systému, striatu a cerebellu (Svizenska et al., 2008). Vysoká koncentrace CB1 receptorů se nachází i v oblastech, které jsou postiženy u pacientů trpících schizofrenií – dorsolaterální prefrontální kůra, přední a zadní cingulum (Dean et al., 2001; Newell et al., 2006; Zavitsanou et al., 2004). Validita tohoto modelu je dále podpořena faktem, že THC zvyšuje hladiny dopaminu v mesolimbické dráze (Bossong et al., 2009; Cheer et al., 2004; Luzzi et al., 2008). CBD (kanabidiol), nepsychoaktivní součást původního konopí, který ve vyšlechtěných modelech potentního kanabisu téměř chybí, blokuje dopaminergní vzestup v mesolimbické dráze díky interakci s transportérem mastných kyselin FAAH a má antipsychotické účinky srovnatelné s amisulpiridem (Leweke et al., 2012). U pacientů se schizofrenií (i pacientů v prodromálních fázích onemocnění) byli nalezeny zvýšené hladiny endogenního kanabinoidu anandamidu v cerebrospinální tekutině. Jeho hladina navíc negativně korelovala s psychotickou symptomatikou, což může teoreticky odrážet snahu o kompenzaci stavu zvýšenou produkcí / sníženou degradací anandamidu (D'Souza et al., 2005; Leweke et al., 2012).

V animálním modelu THC narušuje senzomotorické zpracování informace v testu PPI, účinky na lokomoci nejsou jednoznačné (Nováková, 2014). Dle dat z naší laboratoře

⁶ *Role kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění (Nováková, 2014).*

Vzhledem k faktu, že ČR patří mezi země s nejvyšší prevalencí užívání konopí (kanabisu) na světě, nabývá velmi na významu i vztah této drogy k psychóze. Ve světě je toto téma velmi žhavou a intenzivní oblastí výzkumu. V této přehledové práci jsme se pokusili shrnout současné poznatky týkající se vztahu mezi kanabinoidním systémem, užíváním konopí a psychózou a současně poukázat na budoucí možné terapeutické využití kanabinoidů v léčbě psychotických onemocnění.

samotné THC neměnilo lokomoci potkanů, jiní autoři pozorovali potencování lokomoce indukované dopaminergně (Gorriti et al., 2005) a senzitivizaci pro účinky amfetaminu (Lamarque et al., 2001), za obojí je zodpovědný sekundární vliv na dopaminergní systém.

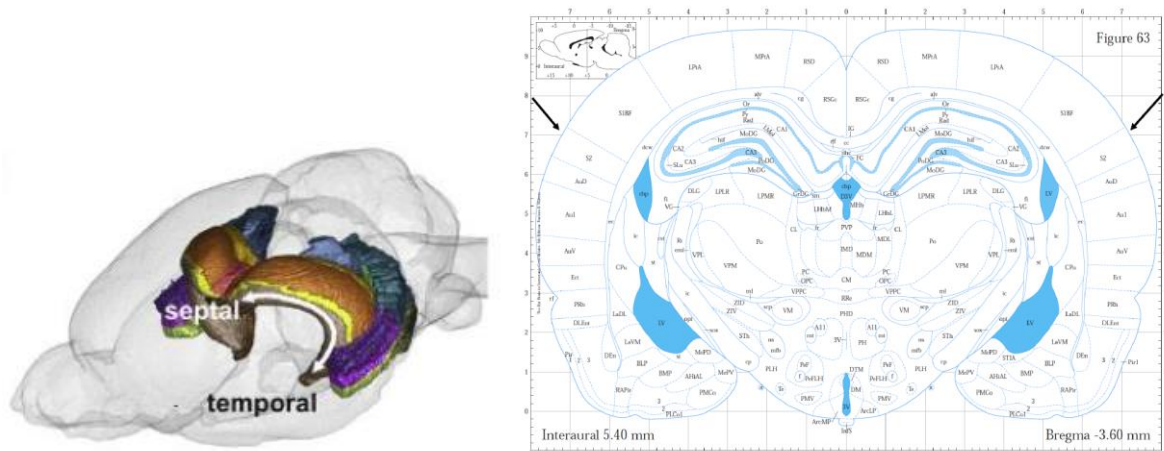
1.3. Základy elektrofyziologie

Elektrofyziologie je metoda hodnotící aktivitu mozku pomocí elektrod snímajících časově a prostorově sumované extracelulární proudy (tvořené excitačními a inhibičními postsynaptickými potenciály, EPSP a IPSP) vznikající činností především kortikálních neuronů (Freeman, 1994). Charakter EEG závisí na souhře mezi aktivními neurony, která je určena synchronizací aferentních signálů a synaptickou organizací lokálních okruhů. Nejzásadnější vliv na kortikální EEG mají palisádovitě uspořádané pyramidové buňky III. a V. vrstvy kůry, které tvoří synchronní dipólové vrstvy. Význam pro EEG má také cytoarchitektonické uspořádání kůry do kortikálních sloupců tvořících lokální okruhy. Vzájemná zpětnovazebná lokální konektivita vede k periodické aktivaci skupiny neuronů, kterou lze snímat jako oscilační aktivitu, tzv. mozkové rytmy (Elul, 1971).

Mozkové rytmy jsou určeny frekvencí a dělíme je do následujících pásem: delta = 1–4 Hz; theta = 4–8 Hz; alfa = 8–12 Hz; beta = nad 12–30 Hz; gama = 30 – 40 Hz. Frekvence mozkových rytmů odpovídá charakteru zpracovávané informace – vyšší frekvence odpovídají kognitivním procesům, pozornosti a zpracování aktuálního dění v okolí organismu, nemají lineární dynamiku ani epicentrum, vznikají paralelní interakcí neuronálních populací a slouží k integraci informace (von der Malsburg a Schneider, 1986). Pomalé frekvence mají integrační, komplexnější charakter, jsou evolučně starší a hierarchicky výše postavené a podílí se na zpracování základnějších procesů (Başar a Bullock, 1992). U člověka je základní aktivitou bdělého mozku při zavřených očích aktivita alfa, která má maximum v okcipitálních oblastech. Pomalejší aktivity se objevují při kolísání vigility a usínání (theta) a především v hlubokém spánku (delta), jindy mohou být známkou farmakogenního ovlivnění záznamu či nejrůznějších patologií. Beta aktivita je normální aktivita člověka při otevřených očích, je odrazem zaměřené pozornosti nebo stresu. Gama oscilace jsou korelátem multisenzorické integrace a vyšších kognitivních procesů (tzv. „binding problem“ – problém vazby⁷) a její patologie je jedním z charakteristických nálezů u psychózy (Kanayama et al., 2007; Lee et al., 2002). Někdy je gama frekvenčně spřažena s aktivitou theta (zejména hipokampální, tzv. theta-gama coupling)

⁷ Problém vazby řeší otázku, jak jsou jednotlivé počítky integrovány do komplexního vjemu

(Buzsáki a Wang, 2012). Velmi často jsou však gama oscilace zastřeny svalovou aktivitou, kterou lze eliminovat obtížně. Řešením je přímý kortikální EEG záznam, který nám umožňují např. animální studie. Naproti tomu základní aktivitou potkana je aktivita theta, vycházející z hipokampu a limbických oblastí, díky tomu, že v mozku potkana je hipokampus relativně velkou strukturou uloženou těsně pod tenkou parietální kůrou (obr. 3) (Buzsaki, 1996). Theta aktivita hlodavců má vztah ke zpracování sensorické informace a řízení pohybů (Buzsaki, 2002). Pomalejší aktivita potkana (delta) značí sníženou vigilitu, přesná funkce vyšších oscilačních aktivit není přesně známá, ale přikládá se jí, podobně jako u člověka, integrační funkce.



Obr. 3. Poloha hipokampu (A) a temporálních elektrod T3, T4 (B) v mozku potkana. Temporální elektrody jsou uloženy nad sekundárním auditivní kůrou poblíž hipokampální formace. Převzato z A - (George Paxinos, 2014) B - (G. Paxinos a Watson, 2007).

Kvantitativní elektrofyziologie vznikla v 50. letech 20. století zavedením matematického modelu pro analýzu výkonových spekter - „rychlé Fourierovy transformace“ (Fast Fourier Transformation; FFT) (Cooley a Tukey, 1965). Jejím výsledkem je odhad zastoupení jednotlivých frekvencí napříč celým frekvenčním spektrem (výkonové spektrum). Další měřitelné parametry jsou absolutní výkon, průměrný výkon (počítaný ze všech elektrod), relativní výkon (% výkonu v daném frekvenčním pásmu oproti výkonu celého frekvenčního spektra), koherence (míra synchronizace mezi dvěma kanály) či další parametry (symetrie, kordance, fázové zpoždění) (Hughes a John, 1999). Kvantitativní analýza signálu dále umožňuje i aplikaci pokročilých metod analýzy jako je např. studium mozkové entropie, nelineární analýzy funkční konektivity (např. symbolic mutual information (SMI)) a z ní vycházející topologická metrika mozkových sítí založená na grafové teorii a celou řadu dalších přístupů. EEG koherence, které se v této práci dále budeme věnovat, je jedním

z nejzákladnějších indikátorů funkční konektivity mozku, pohybuje v intervalu 0–1 a informuje o míře podobnosti dvou EEG signálů (1 = absolutně identický signál; 0 = zcela neidentický signál) (O'Connor a Shaw, 1978). Topografické rozložení hodnot získaných matematickou analýzou EEG lze pak pomocí interpolace graficky zobrazit ve 2D nebo 3D prostoru, tzv. brain mapping.

Zásadní výhodou EEG je, že měří přímo elektrickou aktivitu neuronů, na rozdíl od metod nepřímých měřících prokrvení mozku (funkční magnetické rezonance, fMRI) či metabolickou aktivitu neuronální tkáně (pozitronová emisní tomografie, PET). EEG patří i v současnosti mezi zásadní funkční vyšetření mozkové aktivity a to především pro jeho výborné časové rozlišení, naopak nevýhodou je horší prostorové rozlišení (opačně je tomu u fMRI). V poslední době byly dále vyvinuty různé metody lokalizace zdrojů (Jatoi et al., 2014), např. v humánním výzkumu často používaná metoda LORETA (low resolution electromagnetic tomography, elektromagnetická tomografie s nízkým rozlišením) (Pascual-Marqui et al., 1994) umožňující tomografické zobrazení rozložení mozkové aktivity. Ačkoliv pro metodiku animálního kvantitativního EEG doposud nebyla vytvořena žádná jednoznačná vodítka, metoda je dobře zavedena v naší laboratoři (viz dále kapitola 3). Existují různé pokusy o lokalizaci zdrojů EEG aktivity u zvířat, nicméně žádný nebyl doposud standardizován.

1.4. Vliv psychedelik na QEEG

V polovině 20. století probíhaly studie zkoumající vliv psychedelických látek na povrchové EEG lidských subjektů. Intoxikace mezkalinem a LSD vedly k narušení rytmicity základní aktivity a celkové desynchronizaci záznamu (snížení amplitudy a zrychlení frekvence záznamu) (Anderson a Rawnsley, 1954; Gastaut et al., 1953; Chweitzer et al., 1936; Rinkel et al., 1952). Tyto rané nálezy potvrdily i první studie vlivu LSD na kvantitativní EEG (pokles celkového výkonu, vyšší zastoupení vysokofrekvenční aktivity) (Goldstein et al., 1963; Shagass, 1966) a posléze byli popsány i pro mezkalin a psilocybin (Fink, 1969). V EEG studiích na zvířatech byla pozorována též desynchronizace jak po mezkalinu u potkanů (Speck, 1958), tak po LSD u imobilizovaných koček (Bradley a Elkes, 1957; Vogt et al., 1957) či dalších serotonergních halucinogenech (LSD, mezkalin, psilocybin, DMT) u primátů (Meldrum a Naquet, 1971). Modernější animální EEG výzkum se z velké části zaměřil na halucinogen DOI, u kterého bylo prokázáno snížení amplitudy oscilací nízkých frekvencí (delta) a změny výkonu v pásmu gama (Celada et al., 2008; Wood et al., 2012). Většina animálních studií byla zaměřena na hodnocení konkrétní látky, studie porovnávací kvantitativní EEG po intoxikaci různými

psychedeliky byla provedena zatím pouze v naší laboratoři (Tyls et al., 2012), nepublikované výsledky shrnuty v (Tyls et al., 2014). Z doposud provedených studií není také jasné, jaký má vztah lokální desynchronizace k funkční konektivitě mozku experimentálních zvířat.

Velmi zajímavý pohled na neurobiologii psychedelik nabízejí studie s využitím hlubokých elektrod. V 60. letech proběhla klíčová studie s jejich využitím na lidských subjektech, kdy byly pozorovány vysokovoltážní výboje z pásma theta v limbických a paralimbických oblastech (Monroe a Heath, 1961). Tyto nálezy byly potvrzeny i v animálním modelu – psilocybin stejné změny indukoval u primátů (Horibe, 1974) a LSD indukovalo theta výboje v limbických oblastech koček (Adey et al., 1962), přičemž se tyto výboje nepropagují do povrchového EEG, kde byla pozorována pouze desynchronizace záznamu (Horovitz, 1965; Horovitz et al., 1965).

Moderní studie zaměřené na vliv psychedelik na změny v QEEG po užití ayahuasky (tradiční nápoj obsahující DMT a inhibitory monoaminoxidázy A) zjistily snížení výkonu v pomalých pásmech (delta, theta) a nárůst vysokofrekvenční aktivity z pásma gama (Don et al., 1998) a celkového snížení absolutního výkonu ve všech frekvenčních pásmech s maximem v pásmu theta (Riba et al., 2002). Pro snížení elektrické oscilační aktivity indukované psychedeliky svědčí též data z MEG studie s psilocybinem (viz kapitola 1.1.3.) (Muthukumaraswamy et al., 2013) a recentní nepublikovaná data z naší laboratoře (viz kapitola 4.) (Tyls et al., 2012). Možné vysvětlení navrhnul dr. Carhart-Harris v hypotéze entropického mozku. Psychedelika podle tohoto konceptu způsobují nárůst chaosu (tzv. entropie⁸) v mozkové aktivitě, což se odráží jak v lokální desynchronizaci neuronů, tak v rozpojení neuronálních sítí (Carhart-Harris et al., 2014).

⁸ Entropie je termodynamická veličina charakterizující míru neuspořádanosti systému.

2. Cíle a hypotézy disertační práce

Cílem této disertační práce je charakterizovat a porovnat změny v chování a mozkové aktivitě laboratorního potkana pod vlivem různých serotonergních psychedelik (animální model psychózy). Blíže jsem se zaměřil na agonistu 5HT_{1A}, 5HT_{2A} a 5HT_{2C} receptorů psilocin, u kterého jsem popsal neurobiologický podklad těchto změn.

(2.1.) V první části práce jsem se zaměřil na chování potkanů (kvalitativní změnu vzorce chování, lokomoci a sensorimotorické zpracování informace). Předpokládal jsem, že halucinogeny kvalitativně naruší běžný vzorec chování laboratorního potkana a objeví se nové specifické figury jako „head twitch response“ (známka agonismu 5HT_{2A} receptoru) a známky serotoninového syndromu. Další hypotézou bylo, že halucinogeny povedou ke změnám lokomoční aktivity ve smyslu hyperlokomoce a prostorové dezorientace v otevřeném poli a narušení sensorimotorického zpracování informace. Zajímal nás sexuální dimorfismus reakce na psychedelika a také neurobiologie (receptorový mechanismus) behaviorálních účinků.

(2.2.) V druhé části práce jsem se zaměřil na mozkovou aktivitu snímanou z povrchu mozkové kůry potkana, hodnotil jsem spektrální výkon a konektivitu mozku pomocí EEG koherencí po podání různých serotonergních psychedelik a jejich dynamiku v čase. Předpokládal jsem, že psychedelika způsobí v mozku charakteristické změny spektrálního výkonu (posun maxima do vyšších frekvenčních pásem) a snížení konektivity v souladu s diskonekční teorií psychózy. V případě psilocinu jsem se dále zaměřil i na receptorový mechanismus změn a studoval jsem tedy vliv selektivních antagonistů serotonergních receptorů (5HT_{1A}, 5HT_{2A}, 5HT_{2C}) a hlavních zástupců antipsychotik (klozapin, haloperidol) na změny v EEG indukované psilocinem.

(2.3.) V poslední řadě se práce zaměřuje na translační validitu animálního modelu, totiž srovnává QEEG odpovídající behaviorální inaktivitě s klidovým EEG lidských subjektů intoxikovaných psilocybinem. Předpokládal jsem, že laboratorní potkan i člověk budou vykazovat podobné změny v QEEG.

3. Metodika

Vliv serotonergních halucinogenů na chování laboratorních potkanů jsme hodnotili v testu otevřeného pole a prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce. Kvantitativní analýza EEG byla prováděna na EEG signálu získaného pomocí multikanálového nahrávání z povrchu mozku volně se pohybujících potkanů. V závěrečné části výsledků (kapitola 4.4.) srovnáváme QEEG potkanů po psilocinu s QEEG lidských dobrovolníků pod vlivem psilocybinu (0,26 mg/kg). Popis metodiky těchto experimentů je nad rámec této disertační práce a bude publikován v separátní studii. Metodika ke komentářům výsledků v kapitole 5 je popsána v příslušných příložených publikacích.

3.1. Experimentální zvířata a použité látky

Použili jsme potkaní samce a samice kmene Wistar (Velaz s.r.o. a Konárovice, Česká republika) o hmotnosti 200-300 g pro samce a 160-200 g pro samice, přičemž použitá velikost se lišila v závislosti na typu experimentu. Pro EEG experimenty jsme použili potkaní samce o hmotnosti 280-300 g v době operace, s váhovým příbytkem na 300-350 g v době registrace. Pro jednotlivé farmakologické experimentální skupiny bylo použito 8-12 zvířat. Potkani byli ustájeni po dvojicích ve standardních plastových chovných nádobách v klimatizovaném zvěřinci s regulovanou teplotou ($22\pm 2^\circ\text{C}$) i vlhkostí ($40\pm 10\%$) s pravidelným dvanáctihodinovým cyklem světlo / tma. Přístup ke standardizované potravě i vodě byl ad libitum. Všichni potkani byli experimentálně naivní a testováni pouze jednou. Po operaci byla zvířata rozdělena individuálně (především vzájemného poškození implantovaných elektrod) až do dne registrace. Experimenty byly prováděny během světelné periody, v době mezi 7:30 – 13:00. Veškeré nakládání se zvířaty bylo schváleno odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty při 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy a Psychiatrickém centru Praha a bylo provedeno v souladu se zákonem 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání a směrnici 86/609/EU.

Použili jsme následující psychedelika: LSD (v dávkách 5, 50 a 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$), psilocin (0,25, 1 a 4 mg/kg), mezkalin (10, 20, a 100 mg/kg), DOB (5 mg/kg) a 2C-B (10, 20 a 100 mg/kg). Dále jsme použili selektivní antagonisty serotoninových receptorů 5HT1A – WAY100635 1mg/kg, 5HT2A – MDL100907 0,5 mg/kg, 5HT2B – SB215505 1 mg/kg, 5HT2C – SB242084 1 mg/kg a antipsychotika klozapin 5mg/kg a haloperidol 0,1 mg/kg. Všechny substance byly aplikovány subkutánně rozpuštěné v objemu 2 ml/1 kg hmotnosti zvířete. Podrobnější informace o látkách a jejich ředění viz příložené publikace.

3.2. Hodnocení farmakokinetiky psilocinu a psilocybinu

Pro stanovení farmakokinetiky psilocinu a psilocybinu byla zvířata šetrně usmrcena dekapitací v pravidelných odstupech od podání látek (0,5h, 1h, 2h, a 4h), přitom bylo odebráno sérum a posléze mozek. Biologické vzorky byly zpracovány⁹ ve spolupracující laboratoři na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze. V analyzovaných vzorcích séra a mozkové tkáně byla stanovena koncentrace psilocinu, a to pomocí metody ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií typu trojitý kvadrupól (UHPLC-MS/MS)¹⁰.

3.3. Hodnocení behaviorální aktivity

3.3.1. Chování kvalitativně a kvantitativně - test otevřeného pole

Lokomoci zvířat jsme hodnotili v testu otevřeného pole (čtvercová aréna 60 x 68 x 30 cm) s využitím elektronického systému Ethovision Color Pro v. 3.1.1. k automatické registraci. Aréna byla umístěna v odhlučněné, stejnoměrně osvětlené experimentální místnosti. Pomocí programu Ethovision jsme hodnotili celkovou lokomoci, v programu Activities zkušený experimentátor hodnotil další prvky chování zvířat: rearing (vztyčování), sniffing (čenicování), grooming (čištění), imobilitu, flat body posture (pozice při které se zvíře jakoby plazí) a head twitch response (prudké zatřepání hlavou ze strany na stranu) (Palenicek, Fujakova, Brunovsky

⁹ **Postup při zpracování séra:** Do mikrozkušavek bylo odebráno 100 µl séra. Sérum bylo naředěno 100 µl roztoku 0,1% kyseliny octové a následně postupně sráženo dvěma přídávky 200 µl acetonitrilu (po každém přídávku byl vzorek 1 minutu vortexován 2500 ot/min). Po odstředění (10 min, 5°C, 14000 ot/min) byl odebrán alikvót 500 µl, který byl odpařen na SpeedVac vakuovém koncentrátoru. Následovala rekonstituce v 1 ml 5% methanolu (v/v) s přídávkem 10 mM kyseliny mravenčí.

Postup při zpracování mozkové tkáně: Do mikrozkušavek bylo naváženo 100 mg tkáně (mozek) a následně bylo přidáno 100 µl 0,1% k. octové. Po přídávku 200 mg zirkon-oxidových kuliček byla směs homogenizována v BulletBlenderu (rychlost 8,5 min). Následovala precipitace pomocí tří následných přídávků 300 µl acetonitrilu (po každém přídávku byl vzorek vortexován 1 min). Po odstředění (10 min, 5°C, 14000 ot/min) byl odebrán alikvót 250 µl, který byl odpařen na SpeedVac vakuovém koncentrátoru. Následovala rekonstituce v 1 ml 5% methanolu (v/v) s přídávkem 10 mM k. mravenčí.

¹⁰ **Použitá instrumentace:** chromatograf UHPLC-MS/MS 1290 Infinity Agilent Technologies, 6460 trojitý kvadrupól LC-MS Agilent Technologies s akvizicí dat v pozitivním ESI módu v režimu multiple reaction monitoring (MRM), chromatografická kolona Eclipse Plus RRHD 2.1 x 50 mm, 1.8 µm s předkolonou Eclipse Plus 2.1x5mm, 1.8 µm.

et al., 2011; Palenicek et al., 2013; Palenicek et al., 2010; Palenicek, Lhotkova et al., 2016; Tyls, Palenicek et al., 2016).

3.3.2. Senzorimotorické zpracování informace – prepulzní inhibice úlekové reakce

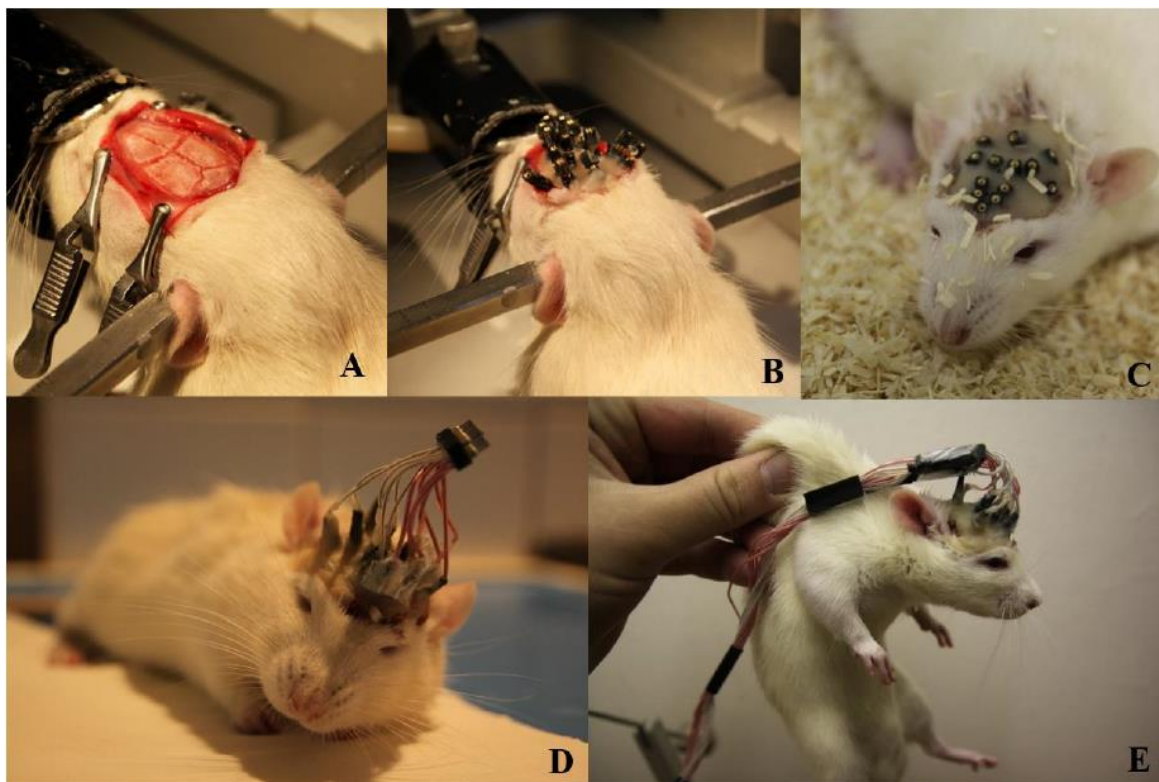
Prepulzní inhibici jsme hodnotili přístrojem SR-Lab (San Diego Instruments, USA). Experimentální zvířata jsou v tomto testu umístěna do speciální komory, ve které jsou jim prezentovány akustické stimuly (120 dB) na pozadí šumu (62 dB) v různém sekvenčním uspořádání, kdy před některé pulzy je předřazen těsně nadprahový prepulz. Zaznamenávána je motorická odpověď následující podnět a následně vypočtena propulzní inhibice (PPI) jako procentuální snížení motorické odpovědi následující pulz oproti sekvenci prepulz-pulz (Palenicek, Fujakova, Brunovsky et al., 2011; Palenicek et al., 2013; Palenicek, Fujakova, Tyls et al., 2011; Palenicek et al., 2010; Tyls, Palenicek et al., 2016).

3.4. Kvantitativní elektroencefalografie

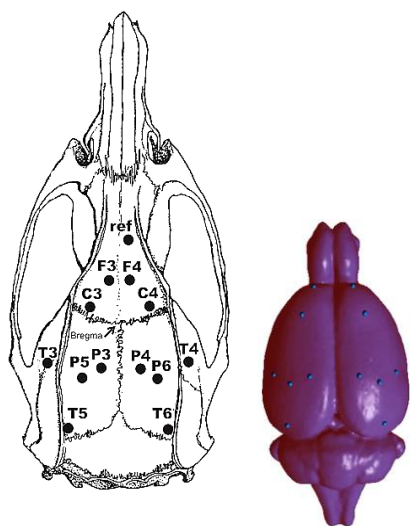
Detailní popis metody QEEG experimentů viz originální články v příloze (Fujakova et al., 2014; Palenicek, Fujakova, Brunovsky et al., 2011; Palenicek et al., 2013).

3.4.1. Operační procedura

Experimentální zvířata byla operována asi 50 minut v celkové isofluranové anestezii. Po uvedení do celkové anestezie byla umístěna do stereotaktického přístroje (Stoelting) a do obnažené lebky po snesení periostu a zastavení krvácení (mechanicky / elektro-kauterem) bylo vyvrtáno mikrovrtákem (Fine Science Tools) 13 otvorů o průměru 0,5 mm pro umístění 1 referenční a 12-ti aktivních elektrod (stříbrných pinů, Mill-Max). Dorzálně pod kůží na krku byla umístěna zemnicí elektroda. Elektrody byly na lebku potkana fixovány dentálním cementem (Dentalon) (obr. 4). Koordináty jednotlivých elektrod byly zaměřeny od Bregmy (křížení koronárního a sagitálního švu). Koordináty byly vybrány pro umístění elektrod nad oblastí odpovídající frontální, parietální a temporální kůře dle stereotaktického atlasu (G. Paxinos a Watson, 2007). (vzdálenost od bregmy, A = anteriorně, P = posteriorně, L = laterálně; viz obr. 5.):



Obr. 4. implantace kortikálních elektrod. A: obnažení lebky a oškrábání periostu; B: zasazení pinů do vyvrtaných děr; C: piny zalité zubním cementem; D: připevnění konektoru; E: spojení konektoru s nahrávacím setem.



F3/F4: frontální asociační kůra ($A= + 5,0$ mm; $L= \pm 2,0$ mm);
C3/C4: primární motorická kůra ($A= + 2,2$ mm; $L= \pm 3,2$ mm);
P3/P4: mediální parietální asociační kůra ($P= + 3,8$ mm; $L= \pm 2,5$ mm);
T3/T4: sekundární sluchová kůra ($P= + 3,6$ mm; $L= \pm 7,2$ mm);
P5/P6: laterální parietální asociační kůra ($P= + 4,5$ mm; $L= \pm 4,5$ mm);
T5/T6: temporální asociační kůra ($P= + 8,3$ mm; $L= \pm 5,8$ mm);

Obr. 5. Polohy elektrod na lebce a mozku laboratorního potkana. F – frontální, C – centrální, P – parietální, T – temporální, Ref = referenční elektroda, lichá čísla – elektrody nad levou hemisférou, sudá čísla – elektrody nad pravou hemisférou

Po 6ti-denní rekonvalescenci byl zvířatům v krátkodobé isofluranové anestezii připevněn konektor pro připojení k registračnímu setu a poté překryt buničinou a kusem chirurgické rukavice aby nedošlo k jeho poškození. Sedmý den byla podána látka a nahráváno EEG.

3.4.2. Registrace EEG signálu

EEG záznamy byly registrovány pomocí 21kanálového zesilovače BrainScope (Unimedis, Praha). Po upevnění potkana konektorem k nahrávacímu kabelu byl spuštěn záznam EEG. Nahráno bylo 10 minut klidového záznamu (baseline) a poté byla zvířatům subkutánně aplikována látka. Celková délka registrace EEG záznamu byla 100 minut a po jeho celou dobu se mohli potkani volně pohybovat. Souběžně s registrací EEG bylo manuálně v programu Activities zaznamenáváno chování zvířat. Chování bylo klasifikováno na aktivitu (běhání, chození, čištění, větší pohyby těla apod.) a inaktivitu (imobilita, čenichání bez pohybu celého těla, malé pohyby hlavou a malé pohyby bez pohybu končetin). Úseky odpovídající aplikaci látek a momenty jakékoliv intervence ze strany experimentátorů (např. probouzení zvířat – probíhalo ojedinele) byly značeny jako artefakt a následně vyřazeny z analýzy.

3.4.3. Analýza EEG záznamů

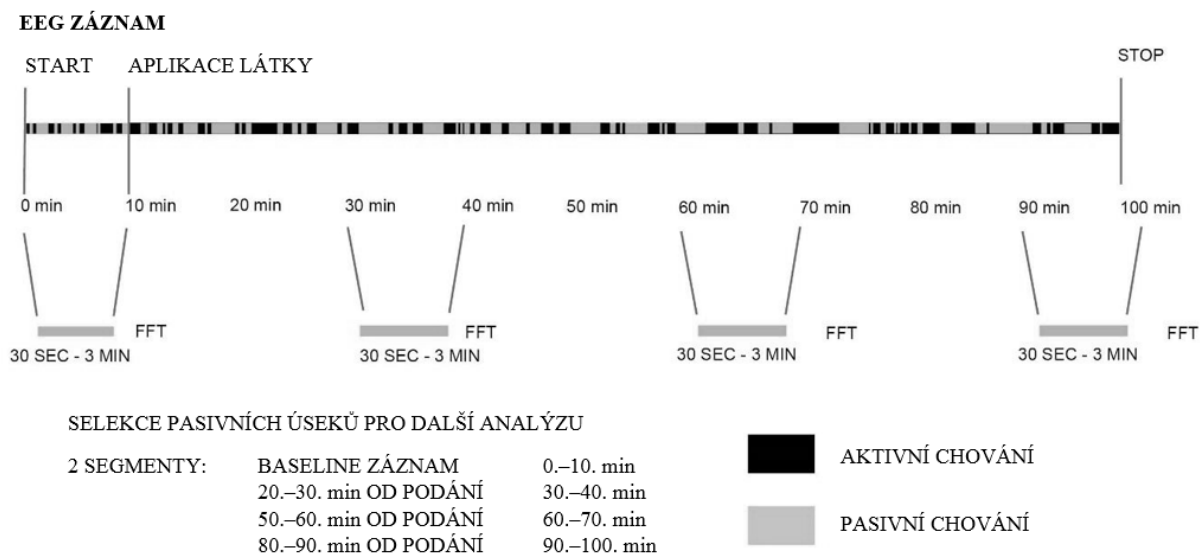
Preprocessing dat byl proveden v programu WaveFinder v.2.6. (Unimedis, Praha) - byl na záznam aplikován pásmový filtr (1 - 40 Hz) a lineární FIR filtr (Finite Impulse Response) a každý EEG záznam rozdělen na úseky odpovídající behaviorální aktivitě a inaktivitě dle programu Activities (obr. 6). V našich původních experimentech jsme hodnotili všechny úseky EEG záznamu bez ohledu na behaviorální aktivitu potkanů (Palenicek, Fujakova, Brunovsky et al., 2011), později jsme však odhalili, že nálezům u lidských subjektů mnohem lépe odpovídají úseky EEG záznamu během behaviorální inaktivity. Pro další analýzu v programu Neuroguide v.2.6.5. (Applied Neuroscience Inc.) byla proto použita pouze data odpovídající behaviorální inaktivitě zvířat. Pro vlastní analýzu byly vybrány 4 úseky EEG před aplikací látek (baseline), 20–30 minut, 50–60 minut a 80–90 minut po aplikaci látek. Z každé části záznamu byly vždy manuálně vizuálně vyselektovány charakteristické reprezentativní bezartefaktové úseky o celkové délce 10 sekund sloužící jako vzor pro poloautomatický výběr dále provedený samotným programem Neuroguide. Do kvantitativní (spektrální a koherenční) analýzy vstupovaly záznamy v délce 0,5–3 minuty, které splňovaly split-half reliabilitu¹¹ $\geq 0,9$; a test-retest reliabilitu¹² $\geq 0,9$. Po rychlé Fourierově transformaci byla z každého vyselektovaného úseku vypočítána autospektra jednotlivých elektrod a cross-spektra vybraných elektrodových párů v následujících frekvenčních pásmech: delta (1–4 Hz), theta (4–7 Hz), alfa (8–12 Hz), beta (12–25 Hz), vysoká beta (25–30 Hz) a gama (30–40 Hz). EEG koherence byly vypočítány (jako

¹¹ poměr rozptylu podílů sudých a lichých jednosekundových úseků

¹² poměr rozptylu první poloviny vyselektovaných úseků vůči druhé polovině

druhá mocnina cross-spektra dělená součinem obou auto-spekter) pro 30 intra-hemisferálních elektrodoých párů: F3-C3, F3-P3, F3-P5, F3-T3, F3-T5, C3-P3, C3-P5, C3-T3, C3-T5, P3-P5, P3-T3, P3-T5, P5-T3, P5-T5, T3-T5 pro levou hemisféru a analogicky pro pravou: F4-C4, F4-P4, F4-P6, F4-T4, F4-T6, C4-P4, C4-P6, C4-T4, C4-T6, P4-P6, P4-T4, P4-T6, P6-T4, P6-T6, T4-T6 a 6 inter-hemisferálních elektrodoých párů: F3-F4, C3-C4, P3-P4, P5-P6, T3-T4, T5-T6.

Obr. 6. Schéma QEEG experimentu.



3.4.4. Vícerozměrná klastrová analýza průběhu změn v EEG koherencích

Jelikož analýza EEG konektivity strategií "zespoda-nahoru" vede k výraznému zvýšení počtu porovnání a objemu dat k interpretaci, zavedli jsme novou metodiku explorativní analýzy EEG konektivity (přístup "shora-dolů"). Navržený přístup je schopen zachytit otisky účinků jednotlivých látek a jejich kombinací. S použitím algoritmu t-SNE (t-Distributed Stochastic Neighbor embedding) jsme byli schopni odhalit shluky EEG koherencí v mnohazměrném prostoru dat a přenést je do topografického zobrazení.

Tento postup lze shrnout následovně: 1. Vypočetli jsme rozdíly mezi časovými intervaly koherencí, abychom zachytili trend účinku. 2. Získané rozdíly jsme použili jako vstupní data pro algoritmus t-SNE za účelem zmenšení dimenzionality dat. 3. Pro objektivizaci počtu shluků jsme použili standartní kritérium shlukování Silhouette. 4. K-means algoritmus roztřídil data do stanoveného počtu shluků. 5. Identifikované shluky elektrodoých párů jsme zobrazili topograficky na kůru mozku potkana.

3.5. Statistické metody

Behaviorální data byla zpracována v programu Sigmastat v. 3.0 a Statistika v 9.0 dvojcestnou analýzou rozptylu ANOVA. Statistika je podrobně popsána v příložené publikaci (Tyls, Palenicek et al., 2016).

Ke statistické analýze absolutních spekter prezentovaných v kapitole 4.3.2. byla použita ANOVA při opakovaných měřeních s Tukeyho HSD post hoc korekcí pro srovnání dynamiky změn spektrálního výkonu v rámci jednotlivých psychedelik. Pro srovnání psychedelik mezi sebou v daném čase byla použita ANCOVA s baseline jako kovariátou (eliminace výrazných interindividuálních rozdílů v rámci malých skupin). EEG koherence byly původně analyzovány t-testem v programu Neuroguide. Detailně jsou data a statistika popsány v diplomové práci (Vejmola, 2016).

QEEG data (absolutní spektra a EEG koherence) psilocinu s 5HT antagonisty a antipsychotiky připravovaná pro publikaci prezentovaná v kapitole 4.3.1. a 4.3.3. byla normalizovaná z-transformací s využitím směrodatné odchylky (SD). Pro srovnání účinku jednotlivých látek na absolutní spektra a EEG koherence mezi sebou (meziskupinový faktor) a v čase (vnitroskupinový faktor) byly použity separátní analýzy rozptylu pro opakovaná měření (RM-ANOVA) s Greenhouse-Geisser korekcí pro jednotlivé elektrodové páry a frekvenční pásma. V případě statisticky významné interakce v RM-ANOVA mezi faktory látka a čas byly prováděny post-hoc testy dle Bonferroniho s korekcí na mnohočetná srovnávání. Pokud srovnání ukázalo statisticky významný rozdíl mezi látkami již při vstupním měření, byla data přepočítána analýzou kovariance (ANCOVA) s vstupními hodnotami jako kovariátami. Všechny analýzy byly realizovány v prostředí Matlab.

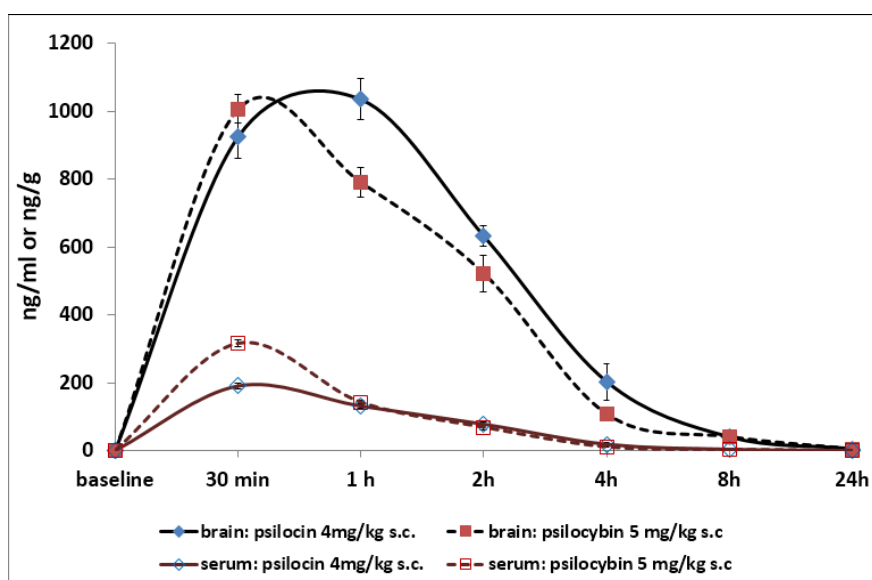
K statistické analýze pilotních humánních QEEG dat (absolutní spektra a EEG koherence prezentovaných v kapitolách 4.3.4. a 4.4.) bylo použito párových t-testů (změna úsek po aplikaci x baseline) v programu Neuroguide (Palenicek, Tyls et al., 2016).

4. Výsledky – serotonergní modely

V této části práce jsou prezentovány jednak publikovaná data formou krátkých komentářů publikovaných článků týkajících se serotonergních halucinogenů, dále pak jsou prezentovány nepublikované související výsledky (kapitola 4.3.2.), zejména pak QEEG data z animálních serotonergních modelu psychózy (které vznikly pod mým vedením a byly použity v diplomové práci mého studenta Bc. Čestmíra Vejmony) (Vejmola, 2016) a nakonec nejnovější experimentální data hodnotící vliv 5HT antagonistů a antipsychotik na změny QEEG indukované psilocinem (kapitola 4.3.3.). Veškerá QEEG data jsou v současnosti připravována k publikaci a jsou proto rozebrána detailněji.

4.1. Farmakokinetika psilocybinu a psilocinu

Úvodem zde prezentuji farmakokinetiku psilocybinu a jeho defosforylované formy psilocinu v přibližně ekvipotentních dávkách (5 a 4 mg/kg), protože následně pomohou pochopit dynamiku QEEG změn indukovanou psilocinem. Obě substance mají po subkutánním podání laboratorním potkanům maximální koncentraci v séru 30 minut po podání. Obě křivky jsou velmi podobné, po podání psilocybinu dosahuje psilocin maximální koncentrace v mozku o něco dříve (35. minuta) než po podání psilocinu (45. minuta) (obr. 7). Rozdíly i průběh křivek je však tak nepatrný, že můžeme konstatovat, že se nejedná o zásadní odlišnost.



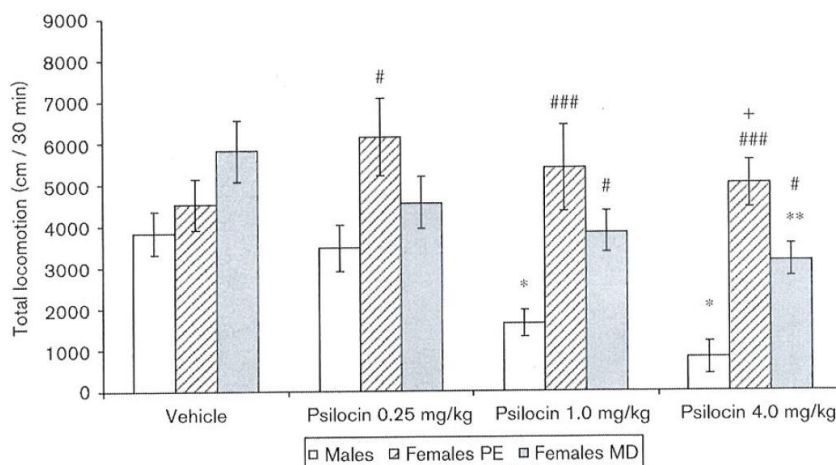
Obr. 7. Farmakokinetika psilocybinu 5mg/kg a psilocinu 4mg/kg po subkutánním podání laboratorním potkanům. Sérové koncentrace látek znázorněny nevyplněnými značkami, koncentrace v mozku plnými značkami.

4.2. Behaviorální účinek psilocinu u laboratorního potkana

Psilocin indukoval významné kvalitativní změny v chování potkana (obr. 9), měl dávkově závislý hypolokomoční účinek (obr. 8) a ve střední dávce 1 mg/kg narušoval sezorimotorické zpracování informace (obr. 10). Zajímaly nás dále pohlavní rozdíly (kapitola 4.2.1.) a receptorový mechanismus (kapitola 4.2.2.), který je podkladem behaviorálního účinku psilocinu. Tato data jsou podrobně popsána v příložené originální publikaci, které jsem prvním autorem - *Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin* (Tyls, Palenicek et al., 2016). Hlavní nálezy prezentujeme v následujících dvou subkapitolách.

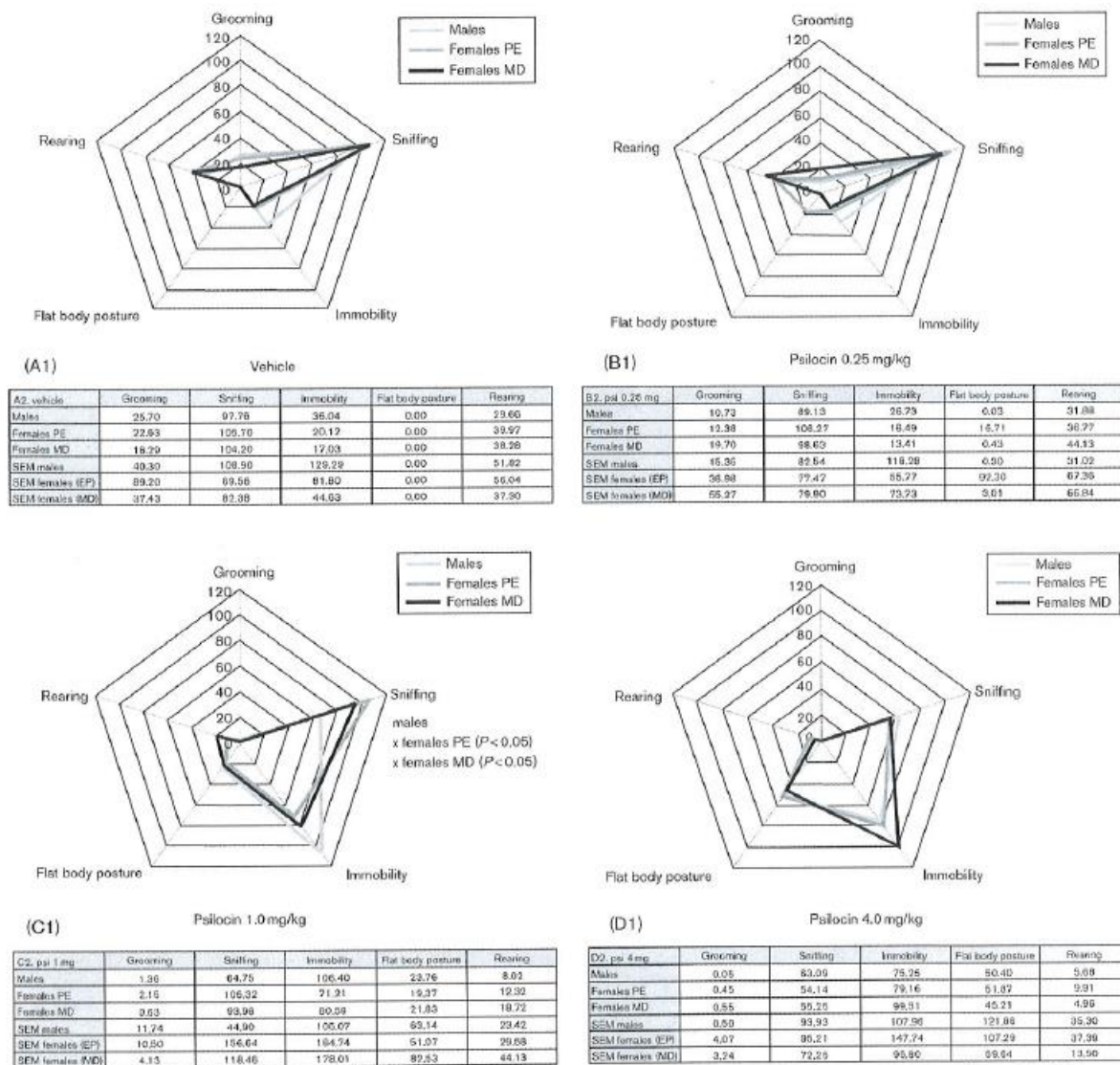
4.2.1. Pohlavní rozdíly účinku psilocinu na potkany

Nalezli jsme významný vliv pohlaví na psilocinem indukované změny. Potkaní samice, zvláště v průběhu pro-estru a estru (PE), tedy v momentě nejvyšších hladin estrogenů, jsou méně citlivé k účinkům psilocinu než samci. U PE samic nebyl pozorován typický hypolokomoční účinek, narušená PPI a lépe si zachovaly normální behaviorální prvek „čenicování“ (obr. 8 - 10).



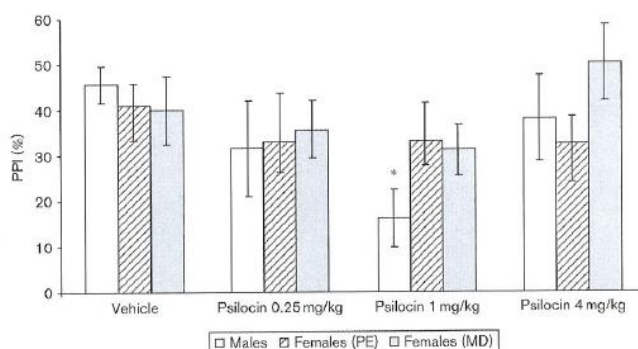
Obr. 8. Účinek psilocinu na lokomoční aktivitu potkana.

Psilocin 0,25, 1 a 4 mg/kg snižoval v závislosti na dávce lokomoční aktivitu samců a samic v průběhu metestru a diestru (MD). *,** $p < 0,05, 0,01$ od příslušné kontrolní skupiny #, ### $p < 0,05, 0,001$ mezi samci a samicemi + $p < 0,05, 0,001$ mezi samicemi v proestu a estru (PE) a samicemi v metestru a diestru (MD).



Obr. 9. Účinek psilocinu na behaviorální vzorec potkanů v testu otevřeného pole.

Data jsou znázorněna jako totální čas v sekundách (číslovaná osa) strávených pěti behaviorálními vzorci pro fyziologický roztok (A1), psilocin 0,25, 1 a 4 mg/kg (B1, C1, D1). Psilocin významně snižoval fyziologické behaviorální vzorce - čenichání (sniffing), exploraci (rearing) a čištění (grooming), naopak indukoval vzorce atypické jako ploché držení těla (flat body posture) a nárůst imobility. Průměrné časy v sekundách jsou znázorněny v tabulkách pod diagramy (A2-D2). Rozdíly mezi pohlavími jsme pozorovali pouze v dávce 1mg/kg psilocinu – samci x samice v proestru a estru (PE) $p < 0,05$ a samci x samice v metestru a diestru (MD) $p < 0,05$.

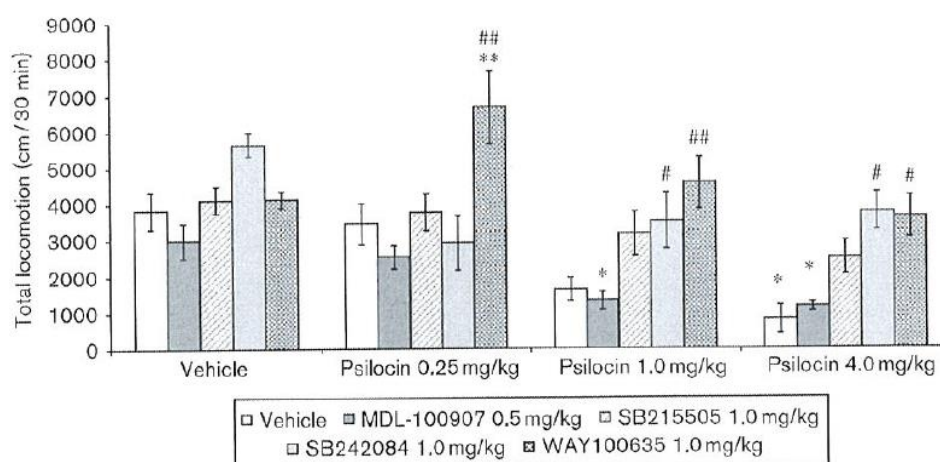


Obr. 10. Účinek psilocinu na PPI potkana.

Psilocin v dávce 1 mg/kg narušil PPI u samců. * $p < 0,05$ relativně oproti fyziologickému roztoku. Samci (Males), Samice v proestru a estru (Females PE), Samice v metestru a diestru (Females MD).

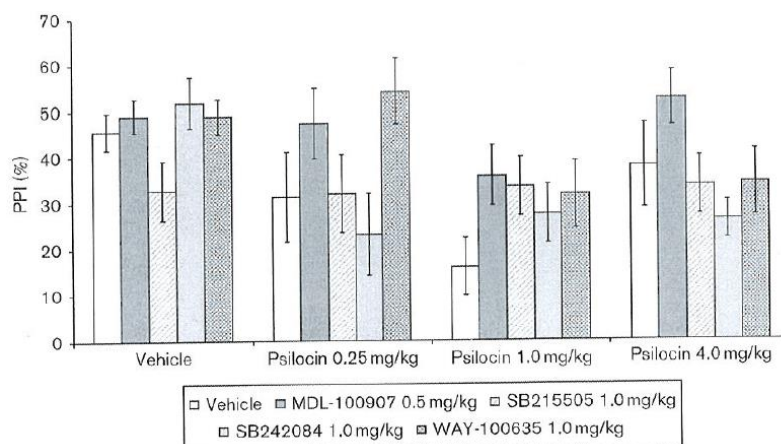
4.2.2. Mechanismy behaviorálních účinků psilocinu

Zjistili jsme, že psilocinem indukované účinky na lokomoční aktivitu potkana nejsou závislé pouze na 5HT_{2A} receptoru, ale přispívají k němu významnou měrou také 5HT_{1A} a 5HT_{2B/C} receptory. Hypolokomoční aktivita způsobená psilocinem byla normalizována antagonisty 5HT_{1A} a 5HT_{2C} receptoru, přičemž antagonist 5HT_{1A} receptoru v nízké dávce psilocinu způsobil dokonce hyperlokomoci. U antagonisty 5HT_{2B} receptoru jsme pozorovali trend k normalizaci, zatímco přidání antagonisty 5HT_{2A} neovlivnilo psilocinem způsobenou hypolokomoci (obr. 11). Žádný z použitých antagonistů neovlivnil významně deficit v PPI indukované psilocybinem (trend k normalizaci byl pozorován u antagonisty 5HT_{2A} a 5HT_{1A}) (obr. 12).



Obr. 11. Účinek antagonistů 5HT receptorů na psilocinem indukované změny v lokomoční aktivitě.

Inhibice lokomoční aktivity indukovaná psilocinem byla normalizována antagonistou 5HT_{2C} (SB242084) a 5HT_{1A} (WAY100635) receptoru, nikoliv však antagonistou 5HT_{2A} receptoru (MDL100907). *,** p < 0,05, 0,01 od kontrolní skupiny. #, ## p < 0,05, 0,01 pro účinek antagonisty v rámci jedné dávky psilocinu.



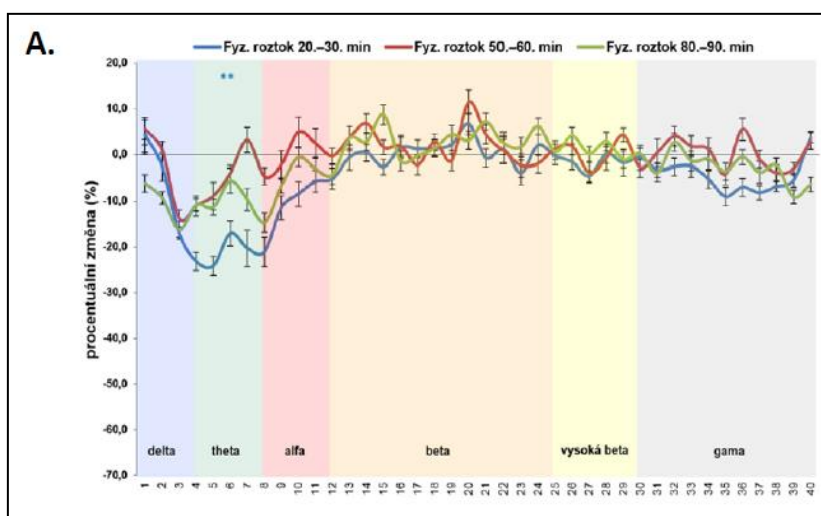
Obr. 12. Vliv 5HT antagonistů na narušení PPI indukované psilocinem. Antagonisté serotoninových receptorů vykazovali mírný trend k normalizaci narušené PPI v dávce 1 mg/kg (ten zde nebyl statisticky významný díky mnohočetným srovnáním).

4.3. QEEG změny vyvolané serotonergními halucinogeny u laboratorního potkana

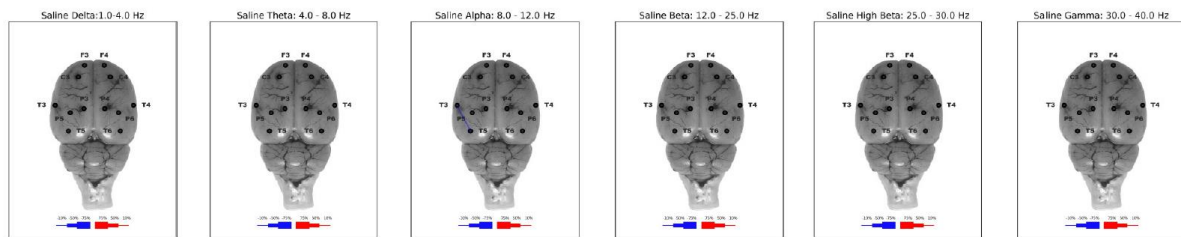
4.3.1. Vliv psilocinu a fyziologického roztoku na QEEG

Psilocin indukoval ve všech časových úsecích ve srovnání s hodnotami před aplikací (baseline) pokles průměrného absolutního výkonu (ze všech elektrod) napříč celým spektrem (obr. 13.B). U kontrolních zvířat poklesl výkon pouze přechodně v pásmu theta (obr. 13.A). Psilocin snižoval absolutní výkon ve všech frekvenčních pásmech a všech hodnocených časových úsecích oproti kontrolní skupině (obr. 14). V případě hodnocení změn na jednotlivé elektrody ve srovnání s kontrolními zvířaty indukoval psilocin pokles výkonu fronto-centrálně a temporálně s převahou změn v pravé hemisféře. Temporo-parietálně bilaterálně však došlo ke zvýšení absolutního výkonu v pásmech theta a gama (obr. 15). Psilocin způsobil masivní pokles intra- (především fronto-temporálních) i inter-hemisferálních koherencí ve srovnání s baseline. Po fyziologickém roztoku nebyly pozorovány výrazné změny (obr. 16). Klastrová analýza dynamiky změn v koherencích identifikovala 4 klastry (sítě) elektrodových párů po psilocinu, zatímco fyziologický roztok nevedl k vytvoření žádných klastrů. Ke změně funkční konektivity indukované psilocinem tak dochází ve 4 charakteristických bilaterálně souměrných konektivitních sítích (obr. 17): interhemisferální bifrontální-bitemporální oblasti (intrahemisferální snížení koherencí), dvou intrahemisferálních souměrných sítích s hlavními uzly fronto-centrálně projikující do temporo-parietálních oblastí uložených mediálně a laterálně, intrahemisferální parieto-temporální síti (snížení intrahemisferálních koherencí).

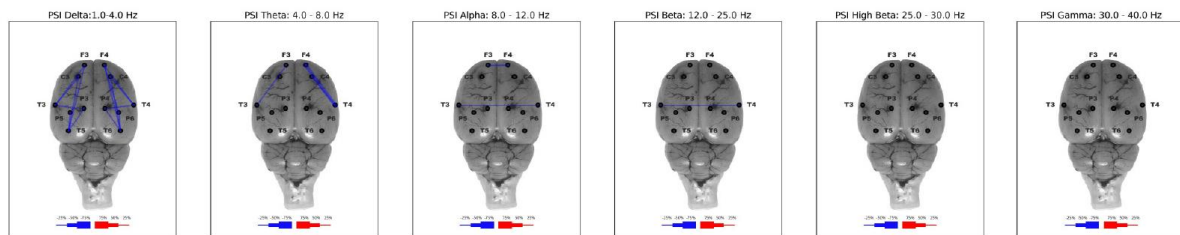
Obr. 13. Procentuální rozdíl průměrného absolutního výkonu po podání fyziologického roztoku (A) a psilocinu (B) v úsecích odpovídajících behaviorální inaktivitě; na ose x je vynesena frekvence v Hz (0 - 40Hz), na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline příslušné skupiny. Hladina významnosti je značena



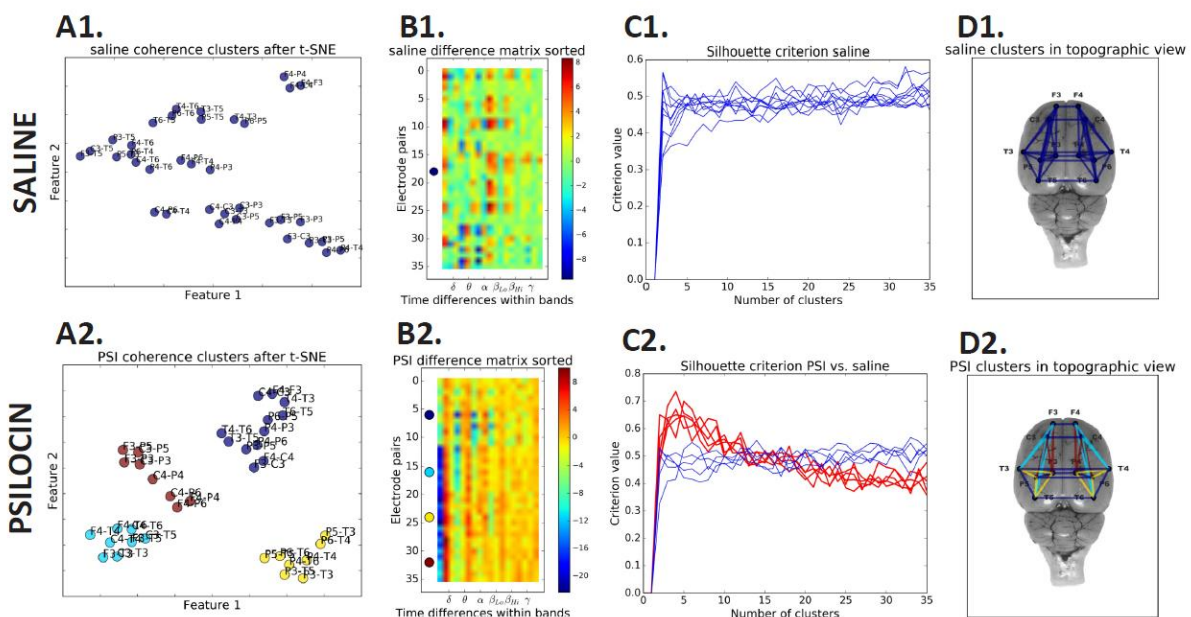
SAL 20-30 x baseline



psilocin 20-30 x baseline



Obr. 16. EEG koherence, A. fyziologický roztok vs. baseline, B. psilocin vs. baseline. zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$, procentuální pokles modře, nárůst červeně – viz legenda pod každým obrázkem mozku, tloušťky čar odpovídají nárůstu/poklesu v absolutních číslech o 25%, 50% a 75%. Fyziologický roztok nepůsobil výrazné změny. Psilocin způsobil pokles intra-hemisferálních fronto-temporálních koherencí v pásmu delta a theta, v pásmu alfa a beta potom pokles inter-hemisferálních (bitemporálních) koherencí.



Obr. 17. Klastrová analýza EEG koherencí po fyziologickém roztoku (A1-D1) a psilocinu (A2-D2). A1. vizualizace klastrů koherenčních párů v 2D prostoru (subjektivně 1 klastr). A2. vizualizace klastrů koherenčních párů v 2D prostoru (zde 4 zřetelné klastry). B1. Diferenční matice ilustrující strukturu dat po fyz. roztoku. Řádky reprezentují elektrodové páry; sloupce jsou změny koherencí - zleva jsou změny ve třech časech po aplikaci (20-30 x baseline, 50-60 x baseline, 80-90 x baseline) vždy pro jednotlivá pásma (delta, theta, alfa, beta, vysoká beta, gama), tedy 18 sloupců. Červené body v diferenční matici znamenají kladné změny, modré body označují záporné

změny. B2. Diferenční matice ilustrující strukturu dat po psilocinu (analogicky). Červené vertikály v matici značí normalizaci psilocinem indukovaných změn na konci měření (čas 80-90 min). Horizontální symetrie znamená podobnosti mezi elektrodovými páry a svědčí pro přítomnost charakteristických klastrů. C1. Objektivizační kritérium pro počet klastrů po fyz. roztohu (modře, $n = 1$). C2. Objektivizační kritérium pro počet klastrů po psilocinu (červeně, $n = 4$) ve srovnání s kontrolními zvířaty (modře, $n = 1$). D1. Vizualizace klastrů koherencí po fyz. roztohu (1 klastř). D2. Vizualizace klastrů koherencí po psilocinu, které tvoří 4 bilaterálně souměrné funkční sítě: interhemisferální bifrontální-bitemporální (1., tmavě modrá), dvě intrahemisferální souměrné sítě s hlavními uzly fronto-centrálně projikující do temporo-parietálních oblastí uložených mediálně (2., tmavě červená) a laterálně (3., světle modrá), intrahemisferální parieto-temporální síť (4., žlutá).

4.3.2. Psilocin, LSD, mezkalin a DOB – porovnání dynamiky QEEG

Změny v kvantitativním EEG indukované psilocinem byly v zásadě shodné s dalšími serotonergními halucinogeny. Některé z těchto dat byly naším týmem již publikovány a lze je nalézt v příloze této práce – QEEG změny po mezkalinu (Palenicek, Fujakova, Tyls et al., 2011). Pozorovali jsme pokles absolutního výkonu napříč frekvenčním spektrem a snížení EEG koherencí. Mezi jednotlivými látkami byly však i diskrétní změny, které společně s jejich časovou dynamikou budou popsány v následujícím textu (psilocin, LSD, mezkalin a DOB) (obr. 18 a 19).

4.3.2.1. Dynamika změn absolutního výkonu

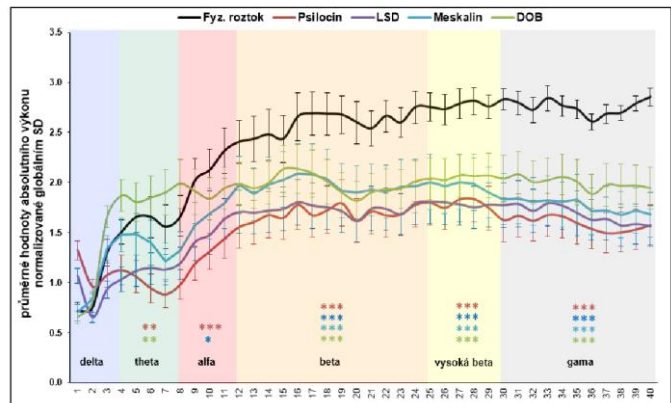
V časovém úseku 20–30 minut (obr. 18.A) se použitá psychedelika signifikantně odlišovala od kontrolních zvířat (kromě pásma delta). ANCOVA neukázala žádné změny výkonu v pásmu delta mezi skupinami. Změny jsme pozorovali v pásmu theta (kontrolní skupina vs. psilocin a DOB; DOB vs. psilocin, LSD a mezkalin; mezkalin vs. psilocin) a pásmu alfa (kontrolní skupina vs. psilocin a LSD; DOB vs. psilocin, LSD a mezkalin; mezkalin vs. psilocin). Ve vyšších frekvencích se výkon všech aktivních látek významně ($p < 0,001$) odchýlil od průměrného výkonu kontrolní skupiny, přičemž změny od psilocinu vykazoval pouze mezkalin (beta) a DOB (beta, gama).

V časovém úseku 50–60 minut po podání látek (Obr. 18.B) se psychedelika významně lišila od kontrolní skupiny (kromě pásma delta). Rozdíly mezi jednotlivými látkami jsme pozorovali v pásmu theta (kontrolní skupina vs. psilocin, LSD a mezkalin; psilocin vs. LSD, mezkalin a DOB), a pásmu alfa (kontrolní skupina vs. psilocin a LSD; DOB vs. psilocin). Silné snížení výkonu vůči kontrolní skupině charakterizuje všechny aktivní látky v pásmech beta, vysoká beta i gama s $p < 0,001$.

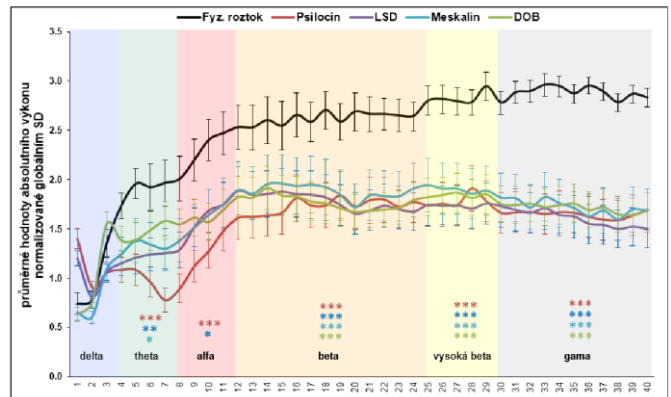
V časovém úseku 80-90 minut od aplikace (Obr. 18.C) se změny absolutního výkonu aktivních látek postupně normalizovaly. V nižších frekvenčních pásmech (delta–alfa) 80–90 minut od podání se již aktivní látky nelišily od kontrol (kromě psilocinu v pásmu theta a alfa), ani mezi sebou (kromě psilocinu od LSD v pásmu alfa). Ve vyšších frekvencích (beta–gamma) se výkon aktivních látek nadále signifikantně lišil od kontrolní skupiny.

Obr. 18. Průměrné hodnoty absolutního výkonu normalizované globálním SD pro všechny látky v jednotlivých časových úsecích. A: 20–30 min po podání, B: 50-60 min po podání, C: 80-90 min po podání; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

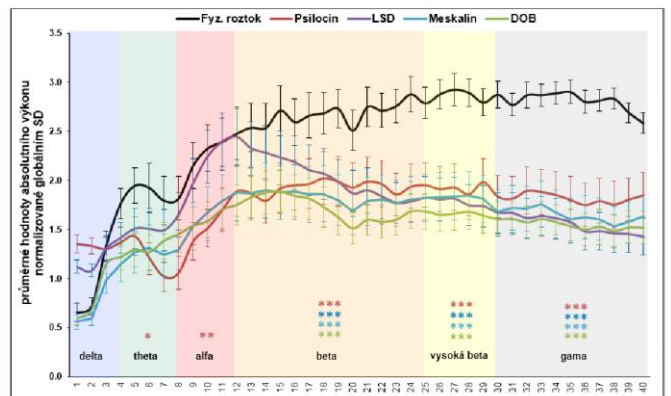
A. 20 - 30 min



B. 50 - 60 min



C. 80 - 90 min



		delta					alfa					vysoká beta				
		Současný efekt: F(4, 42)=1,8201, p=0,14292					Současný efekt: F(4, 42)=5,8906, p=0,00074					Současný efekt: F(4, 42)=3,9939, p=0,00779				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin							***					***			
3	LSD							*					***			
4	meskalin												***			
5	DOB								***	**	*		***			
		theta					beta					gamma				
		Současný efekt: F(4, 42)=8,0840, p=0,00006					Současný efekt: F(4, 42)=5,9091, p=0,00073					Současný efekt: F(4, 42)=2,6824, p=0,04438				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin		**					***					***			
3	LSD							***					***			
4	meskalin				**			***	*				***			
5	DOB		**	***	***	*		***	*				***	*		

		delta					alfa					vysoká beta				
		Současný efekt: F(4, 42)=1,8201, p=0,14292					Současný efekt: F(4, 42)=5,8906, p=0,00074					Současný efekt: F(4, 42)=3,9939, p=0,00779				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin							**					***			
3	LSD								**				***			
4	meskalin												***			
5	DOB												***			
		theta					beta					gamma				
		Současný efekt: F(4, 42)=8,0840, p=0,00006					Současný efekt: F(4, 42)=5,9091, p=0,00073					Současný efekt: F(4, 42)=2,6824, p=0,04438				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin		*					***					***			
3	LSD							***					***			
4	meskalin							***					***			
5	DOB							***					***			

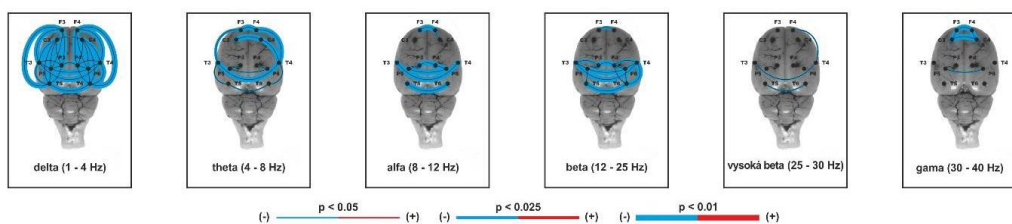
		delta					alfa					vysoká beta				
		Současný efekt: F(4, 42)=1,8201, p=0,14292					Současný efekt: F(4, 42)=5,8906, p=0,00074					Současný efekt: F(4, 42)=3,9939, p=0,00779				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin							***					***			
3	LSD							*					***			
4	meskalin												***			
5	DOB								*				***			
		theta					beta					gamma				
		Současný efekt: F(4, 42)=8,0840, p=0,00006					Současný efekt: F(4, 42)=5,9091, p=0,00073					Současný efekt: F(4, 42)=2,6824, p=0,04438				
		kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB	kontrola	psilocin	LSD	meskalin	DOB
1	kontrola															
2	psilocin		***					***					***			
3	LSD		**	*				***					***			
4	meskalin		*	*				***					***			
5	DOB			**				***					***			

Obr. 19. Statistické hodnoty ANCOVA s dosaženou hladinou významnosti z post hoc testu pro měření v jednotlivých časech A: 20–30 min po podání, B: 50-60 min po podání, C: 80-90 min po podání;

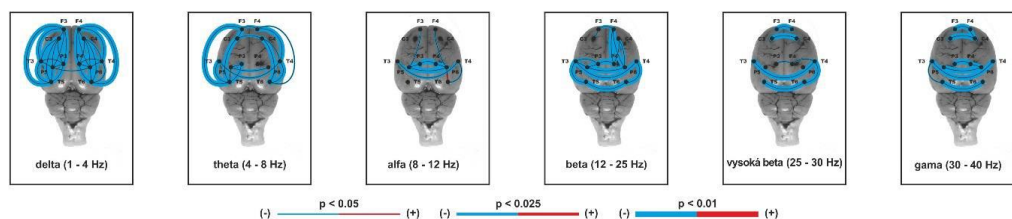
4.3.2.2. Dynamika změn EEG koherencí – srovnání s baseline

V prvním časovém úseku došlo k poklesu EEG koherencí intra- i inter-hemisferálně u všech psychedelik v pásmu delta. Pozorovali jsme diskrétní, převážně intra-hemisferální poklesy EEG koherencí i ve vyšších frekvenčních pásmech. Ojediněle byl zaznamenán nárůst EEG koherence po LSD a DOB. Pokles EEG koherencí po mezkalinu byl méně vyjádřen ve vyšších frekvencích. V druhém časovém úseku (Obr. 20) přetrvával pokles EEG koherencí u všech psychedelik intra- i inter-hemisferálně v pásmu delta. Snížení koherencí se prohlubovalo ve vyšších frekvenčních pásmech u všech látek. Převládá nadále pokles inter-hemisferální, objevují se ale již četné poklesy intra-hemisferální. Nebylo již pozorováno žádné zvýšení EEG koherencí oproti předchozímu úseku. Pokles EEG koherencí po mezkalinu byl již srovnatelný s ostatními halucinogeny. V posledním časovém úseku byl obraz EEG koherencí podobný jako v druhém úseku s tím, že došlo k dalšímu poklesu EEG koherencí v pásmu theta (shrnuje obr. 21).

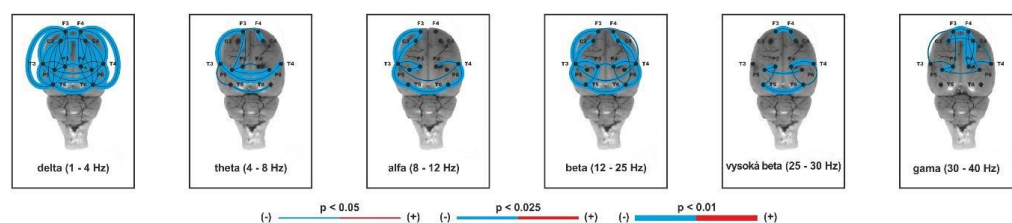
Psilocin



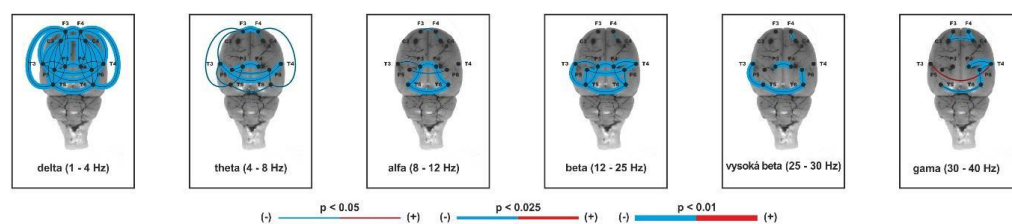
LSD



Mezkalin



DOB



Obr. 20. Změna EEG koherencí v maximu účinku látek – v časovém úseku 20-30 (psilocin) a 50-60 (LSD, mezkalin, DOB) oproti baseline; jedná se o jiné zobrazení EEG koherencí než v kapitole 4.3.1. Pokles koherence modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legenda. Psilocin způsobil v čase stabilní pokles EEG koherencí napříč frekvenčním pásmem.

psychodelikum	čas x baseline	DELTA		THETA		ALFA		BETA		VYSOKÁ BETA		GAMA	
		Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H
Psilocin	20 - 30 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	50 - 60 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
LSD	20 - 30 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	50 - 60 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
Mezkalin	20 - 30 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	50 - 60 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
DOB	20 - 30 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	50 - 60 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue
	80 - 90 min	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue	blue

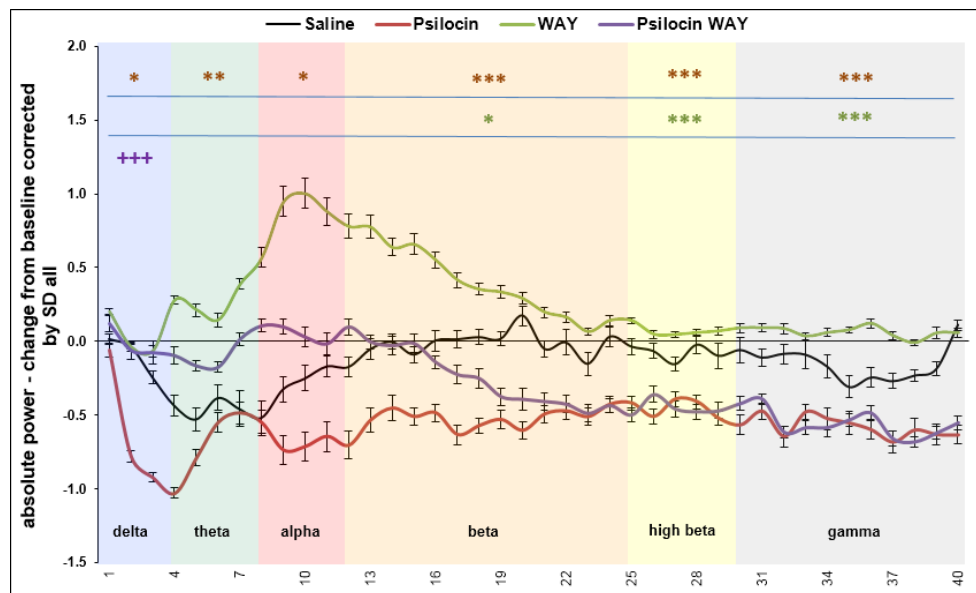
Obr. 21. Dynamika změn EEG koherencí. Škála reprezentuje dynamiku změn EEG koherence od silného snížení (tmavě modrá), přes ojedinělé změny (bílá) po zvýšení koherence (tmavě červená). Psychedelika indukovala snížení EEG koherencí s maximem v nižších frekvenčních pásmech. V nízkých frekvenčních pásmech převládaly změny intra-hemisferálně (Intra-H), ve vyšších frekvenčních pásmech inter-hemisferálně (Inter-H).

4.3.3. Vliv 5HT antagonistů a antipsychotik na QEEG změny indukované psilocinem

4.3.3.1. Absolutní výkon

4.3.3.1.1. Účinek antagonisty 5HT1A receptoru

Antagonista 5HT1A receptoru zvyšoval průměrný absolutní výkon v pásmech theta - gamma, hladinu významnosti změny dosáhl v pásmech beta – gamma. Pokud byl podán společně s psilocinem, vedl k normalizaci psilocinem sníženého absolutního výkonu v nižších frekvencích (delta – beta), hladinu významnosti však dosáhl pouze v pásmu delta (viz obr. 22) a v temporo-parietální oblasti (obr. 23). Tato normalizace byla přítomna v 20.-30. i 50.-60. minutě, v 80.-90. minutě byla méně výrazná vzhledem k odeznívání účinků psilocinu.



Obr. 22. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek 5HT1A antagonisty v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$, vynesena v grafu hnědě resp. zeleně (psilocin resp. WAY vs. kontrolní skupina) a fialově (psilocin s WAY vs. psilocin).

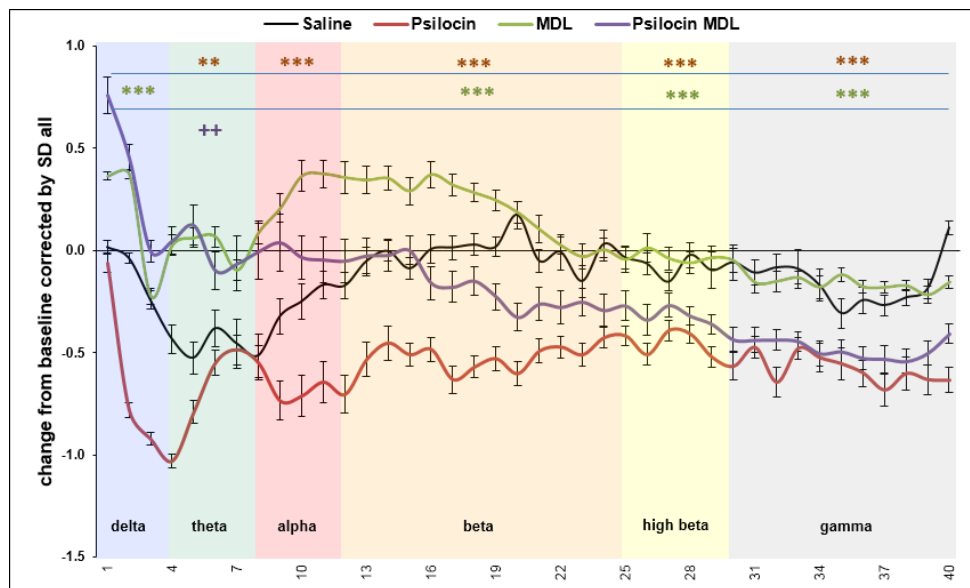
ELEKTR.	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz	5 Hz	6 Hz	7 Hz	8 Hz	9 Hz	10 Hz	11 Hz	12 Hz	13 Hz	14 Hz	15 Hz	16 Hz	17 Hz	18 Hz	19 Hz	20 Hz	21 Hz	22 Hz	23 Hz	24 Hz	25 Hz	26 Hz	27 Hz	28 Hz	29 Hz	30 Hz	31 Hz	32 Hz	33 Hz	34 Hz	35 Hz	36 Hz	37 Hz	38 Hz	39 Hz	40 Hz	
F4-REF	-0.14	0.06	0.17	0.53	0.40	0.49	0.49	0.71	0.75	0.86	0.32	0.69	0.46	0.21	0.03	0.10	0.10	0.13	-0.14	-0.12	-0.08	-0.14	0.09	-0.16	-0.33	0.06	-0.01	-0.24	-0.19	0.22	0.10	-0.04	-0.11	-0.03	0.28	0.22	0.03	0.11	0.15	0.26	
C4-REF	-0.01	0.65	0.80	1.13	0.81	0.66	0.67	0.88	1.30	1.12	1.16	1.24	0.86	0.74	0.56	0.68	0.56	0.24	0.02	-0.03	0.23	-0.09	-0.17	-0.12	-0.16	0.19	-0.06	-0.03	0.08	0.27	0.18	0.22	-0.17	0.07	0.07	0.35	-0.03	0.09	0.15	0.37	
P4-REF	-0.12	0.54	0.53	0.78	0.56	0.40	0.41	0.41	0.71	0.60	0.30	0.64	0.32	0.19	0.47	0.41	0.51	0.40	0.21	0.45	0.27	0.27	0.29	0.13	0.08	0.36	0.32	0.05	0.18	0.10	0.28	0.28	-0.09	-0.15	0.25	0.10	0.05	-0.14	-0.08	0.08	
P6-REF	0.11	0.77	0.86	0.87	0.48	0.23	0.48	0.50	0.73	0.68	0.52	0.60	0.31	0.39	0.61	0.35	0.65	0.49	0.10	0.21	0.13	0.03	0.09	-0.01	-0.13	0.16	-0.12	-0.29	0.05	0.18	-0.05	0.05	-0.18	-0.25	-0.05	0.14	-0.06	-0.16	-0.15	-0.12	
T4-REF	0.73	1.15	1.27	1.03	0.45	0.10	0.28	0.53	0.65	0.50	0.49	0.52	0.41	0.49	0.41	0.17	0.48	0.50	0.14	0.13	0.09	-0.04	-0.04	-0.07	-0.16	0.14	-0.22	-0.21	-0.10	0.02	-0.11	-0.22	-0.22	-0.15	-0.10	0.07	-0.13	-0.22	-0.15	-0.17	
T6-REF	0.32	0.85	1.12	1.14	0.95	0.38	0.63	0.77	0.94	0.77	0.98	1.05	0.76	0.68	0.41	0.45	0.69	0.63	0.44	0.49	0.19	0.18	0.22	0.39	0.04	0.15	0.04	0.09	0.05	0.24	0.12	0.01	-0.11	-0.43	-0.10	0.07	-0.25	-0.30	-0.20	0.07	
F3-REF	0.14	0.71	0.83	0.96	0.34	0.30	0.35	0.73	0.66	0.54	0.33	0.55	0.41	0.13	0.13	0.05	-0.10	-0.25	-0.35	-0.49	-0.31	-0.45	-0.52	0.40	-0.33	-0.51	-0.65	-0.63	-0.66	0.49	-0.43	-0.64	-0.65	-0.55	-0.61	-0.57	-0.72	-0.59	-0.61	-0.68	
C3-REF	-0.02	0.73	0.87	1.10	0.87	0.82	0.93	1.12	1.48	1.58	1.37	1.44	1.10	0.85	0.94	0.62	0.49	0.23	0.23	0.31	0.12	0.05	-0.12	-0.26	-0.05	0.17	-0.10	0.19	0.17	0.50	0.29	0.31	0.31	0.55	0.43	0.49	0.48	0.41	0.50	0.28	
P3-REF	-0.14	0.50	0.51	0.66	0.58	0.45	0.44	0.47	0.54	0.58	0.24	0.61	0.30	0.06	0.44	0.12	0.30	0.21	0.12	0.31	0.19	0.18	0.18	0.09	0.34	0.34	0.28	0.14	0.41	0.39	0.18	0.33	0.03	0.21	0.17	0.25	0.36	0.03	0.20	0.20	
P5-REF	0.24	0.78	0.85	0.83	0.60	0.28	0.51	0.57	0.83	0.86	0.59	0.85	0.40	0.29	0.72	0.43	0.40	0.32	0.26	0.34	-0.18	0.03	-0.09	-0.08	0.02	0.24	-0.29	-0.12	0.23	0.01	0.04	-0.07	-0.15	-0.11	-0.16	-0.01	0.22	-0.18	0.08	0.15	
T3-REF	0.88	1.12	1.39	1.14	0.31	0.01	0.38	0.50	0.68	0.50	0.44	0.47	0.21	0.33	0.39	0.20	0.23	0.24	0.08	0.26	-0.15	-0.02	-0.15	-0.16	-0.32	-0.02	-0.30	-0.11	0.00	-0.11	0.06	-0.33	-0.19	-0.08	-0.24	-0.07	-0.20	-0.33	-0.25	-0.02	
T5-REF	0.22	0.78	0.97	1.05	0.93	0.39	0.47	0.73	0.76	0.70	0.81	1.00	0.82	0.76	0.85	0.47	0.58	0.68	0.74	0.65	0.52	0.53	0.51	0.60	0.23	0.50	0.30	0.35	0.39	0.42	0.35	0.43	0.25	0.21	0.29	0.35	0.51	0.31	0.49	0.59	
	-	0.5	-0.25	0.25	0.5	+																																			

Obr. 23. Rozdíl absolutního výkonu v jednotlivých elektrodách indukovaného psilocinem a antagonistou 5HT1A receptoru oproti psilocinu samotnému v maximu účinku (20.-30. minuta).

Hodnoty jsou bezrozměrná čísla vypočítaná následujícím způsobem: 1) data byla normalizována směrodatnou odchylkou všech zvířat 2) od hodnot absolutního spektra v daném časovém úseku byla odečtena odpovídající baseline a 3) finální číslo je rozdílem hodnot získaných v bodu dvě, kdy byly od psilocinu odečteny hodnoty kontrol. Tučně jsou zobrazeny signifikantní výsledky statistiky po 1 Hz pro jednotlivé elektrody, sudá čísla elektrod pro pravou hemisféru, tučně signifikantní změna výkonu, barva popisuje směr změny (červená +, modrá -), odstín popisuje míru změny od nejsvětější po nejtmaší (0 - 0,25, 0,26-50, 0,51+). Antagonista 5HT1A receptoru s psilocinem vedl ke zvýšení výkonu v nižších frekvencích s převahou temporo-parietálně oproti psilocinu.

4.3.3.1.2. Účinek antagonisty 5HT2A receptoru

Antagonista 5HT2A receptoru zvyšoval absolutní spektrální výkon v pásmech alfa a beta (signifikantní byla změna beta – gama). Pokud byl podán v kombinaci s psilocinem, vedl k normalizaci sníženého absolutního výkonu v nižších frekvencích (theta, alfa, částečně beta), hladinu významnosti dosahoval však pouze v pásmu theta (obr. 24) v centrálních oblastech (obr. 25). Tato normalizace byla přítomna ve 20.-30. i 50.-60. minutě, v 80.-90. minutě byla méně výrazná vzhledem k odeznívání účinků psilocinu.



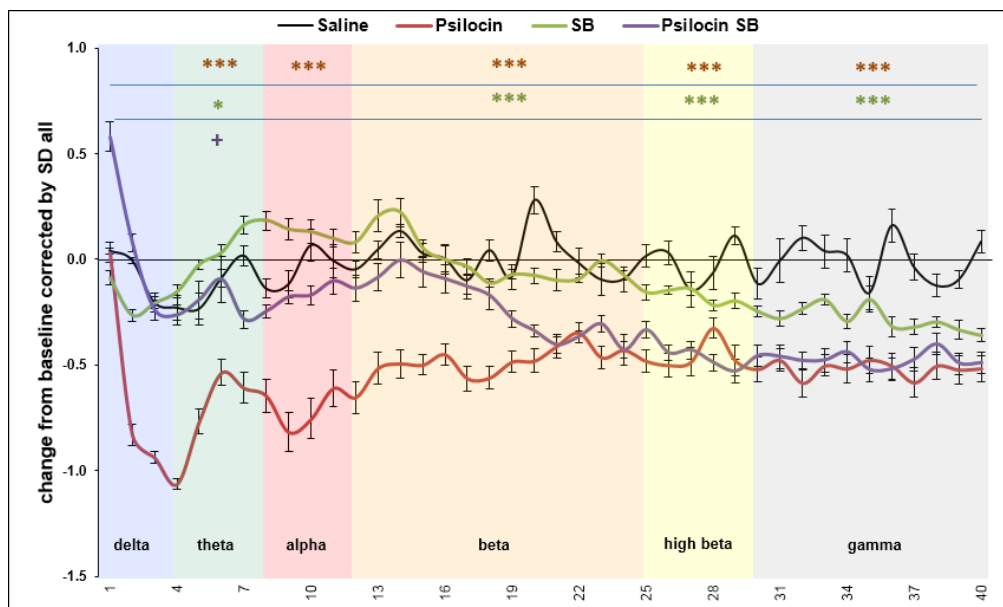
Obr. 24. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek 5HT2A antagonisty v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

ELEKTR.	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz	5 Hz	6 Hz	7 Hz	8 Hz	9 Hz	10 Hz	11 Hz	12 Hz	13 Hz	14 Hz	15 Hz	16 Hz	17 Hz	18 Hz	19 Hz	20 Hz	21 Hz	22 Hz	23 Hz	24 Hz	25 Hz	26 Hz	27 Hz	28 Hz	29 Hz	30 Hz	31 Hz	32 Hz	33 Hz	34 Hz	35 Hz	36 Hz	37 Hz	38 Hz	39 Hz	40 Hz
T4-REF	0.34	1.05	0.39	0.86	0.63	0.69	0.58	0.88	1.13	1.14	1.11	1.26	1.05	0.90	0.97	0.77	0.85	0.92	0.64	0.67	0.80	0.54	0.66	0.47	0.52	0.79	0.40	0.37	0.56	0.77	0.65	0.68	0.42	0.69	0.72	0.68	0.60	0.81	0.71	0.69
C4-REF	0.32	1.07	0.51	1.16	0.89	0.88	0.93	1.24	1.66	1.57	1.86	1.75	1.41	1.24	0.97	1.25	1.33	1.14	0.73	1.05	1.12	0.79	0.66	0.68	0.71	0.94	0.68	0.64	0.76	0.87	0.73	0.96	0.48	0.81	0.73	0.74	0.65	0.65	0.60	0.78
P4-REF	0.19	1.07	0.62	1.05	0.88	0.67	0.12	0.23	0.62	0.77	0.78	0.55	0.47	0.39	0.49	0.67	0.97	0.85	0.68	0.90	0.64	0.64	0.62	0.45	0.41	0.51	0.57	0.26	0.43	0.32	0.23	0.60	0.26	0.23	0.67	0.37	0.69	0.52	0.38	0.53
P6-REF	0.30	1.15	0.73	1.05	0.74	0.43	0.04	0.15	0.51	0.61	0.75	0.87	0.57	0.56	0.67	0.79	1.09	0.86	0.61	0.69	0.06	0.05	-0.06	0.07	-0.10	0.11	-0.01	-0.09	0.19	0.28	0.06	0.35	0.12	-0.10	0.17	0.23	0.43	0.23	0.19	0.30
T4-REF	0.54	1.31	0.85	1.07	0.67	0.29	0.13	0.30	0.54	0.54	0.42	0.25	0.43	0.49	0.46	0.47	0.62	0.57	0.46	0.47	0.32	0.23	0.25	0.27	0.16	0.20	0.04	0.18	0.25	0.20	0.11	0.23	0.18	0.17	0.18	0.26	0.24	0.18	0.18	0.32
T6-REF	0.61	1.30	0.95	1.21	1.00	0.54	0.43	0.81	1.06	1.34	1.19	1.28	1.21	1.28	1.16	1.13	1.47	1.10	1.41	1.07	0.64	0.75	0.70	0.72	0.38	0.48	0.38	0.43	0.57	0.71	0.35	0.31	0.34	0.17	0.16	0.38	0.29	0.20	0.11	0.34
F3-REF	0.29	0.99	0.56	0.82	0.59	0.53	0.41	0.49	0.66	0.72	0.62	0.78	0.57	0.57	0.42	0.46	0.48	0.43	0.41	0.44	0.36	0.31	0.33	0.23	0.23	0.29	0.21	0.29	0.33	0.35	0.20	0.26	0.31	0.35	0.24	0.26	0.21	0.23	0.28	0.23
C3-REF	0.36	1.14	0.68	1.15	1.07	1.30	1.25	1.48	2.09	2.30	2.15	2.08	1.74	1.58	1.65	1.47	1.46	1.38	1.36	1.62	1.35	0.99	1.07	0.83	0.97	1.32	1.00	1.01	1.05	1.40	0.74	1.04	0.94	1.14	1.03	0.83	0.76	0.88	0.99	0.61
P3-REF	0.27	1.01	0.57	0.90	0.96	0.74	0.18	0.35	0.60	0.93	0.74	0.91	0.59	0.39	0.62	0.61	0.81	0.63	0.54	0.64	0.54	0.48	0.61	0.36	0.64	0.61	0.62	0.41	0.59	0.40	0.18	0.50	0.34	0.33	0.56	0.47	0.78	0.62	0.62	0.64
P5-REF	0.53	1.15	0.72	0.98	0.93	0.56	0.10	0.38	0.80	1.05	0.81	1.05	0.76	0.64	0.86	1.05	0.86	0.80	0.80	0.62	0.40	0.29	0.17	0.16	0.24	0.40	0.14	0.15	0.39	0.24	0.09	0.26	0.18	-0.05	0.20	0.23	0.55	0.28	0.46	0.44
T3-REF	0.81	1.37	0.92	1.22	0.73	0.33	0.10	0.29	0.48	0.57	0.45	0.23	0.35	0.46	0.48	0.47	0.45	0.56	0.52	0.48	0.31	0.27	0.28	0.32	0.18	0.20	0.10	0.22	0.29	0.23	0.18	0.27	0.25	0.26	0.22	0.23	0.27	0.15	0.18	0.34
T5-REF	0.56	1.23	0.88	1.19	1.10	0.50	0.39	1.06	1.16	1.37	1.32	1.41	1.38	1.18	1.24	1.34	1.02	0.98	1.12	0.80	0.59	0.63	0.48	0.57	0.15	0.40	0.19	0.31	0.43	0.41	0.28	0.45	0.32	0.14	0.35	0.37	0.54	0.39	0.27	0.53

Obr. 25. Rozdíl absolutního výkonu v jednotlivých elektrodách indukovaného psilocinem a antagonistou 5HT2A receptoru oproti psilocinu samotnému v maximu účinku (20.-30. minuta). Legenda viz obr. 23. Antagonista 5HT2A receptoru s psilocinem vedl ke zvýšení výkonu napříč spektrem oproti psilocinu samotnému, hodnoty dosahovaly hladiny významnosti v centrálních oblastech.

4.3.3.1.3. Účinek antagonisty 5HT2C receptoru

Antagonista 5HT2C receptoru působil zvýšení absolutního výkonu v pásmu theta a snížení ve vyšších frekvenčních pásmech (beta – gamma). Pokud byl podán společně s psilocinem, vedl k normalizaci sníženého absolutního výkonu v nižších frekvencích (delta – alfa, částečně i beta), hladiny významnosti dosahoval pouze v pásmu theta (obr. 26) bez jednoznačné lokalizace (obr. 27). Tato normalizace nebyla přítomna ve 20.-30. minutě, projevila se až v úseku 50-60 minut po podání látek, v 80.-90. minutě byla méně výrazná vzhledem k odeznívání účinků psilocinu.



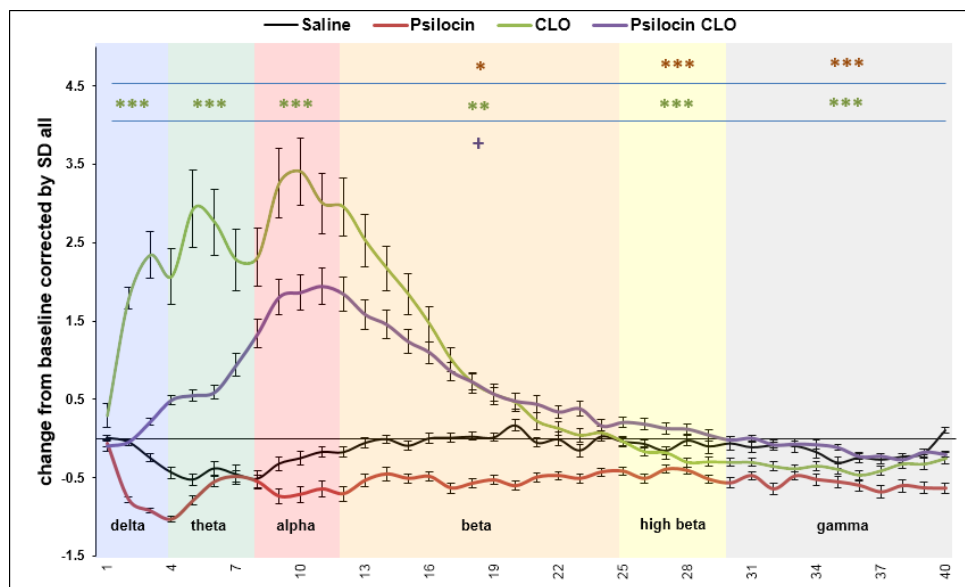
Obr. 26. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek 5HT2C antagonisty v čase 50-60 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

ELEKTR.	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz	5 Hz	6 Hz	7 Hz	8 Hz	9 Hz	10 Hz	11 Hz	12 Hz	13 Hz	14 Hz	15 Hz	16 Hz	17 Hz	18 Hz	19 Hz	20 Hz	21 Hz	22 Hz	23 Hz	24 Hz	25 Hz	26 Hz	27 Hz	28 Hz	29 Hz	30 Hz	31 Hz	32 Hz	33 Hz	34 Hz	35 Hz	36 Hz	37 Hz	38 Hz	39 Hz	40 Hz
F4-REF	0.60	0.71	0.45	0.62	0.46	0.49	0.42	0.51	0.82	0.61	0.48	0.49	0.40	0.30	0.21	0.24	0.30	0.25	0.12	-0.01	0.13	0.08	-0.05	-0.20	0.06	-0.06	-0.12	-0.10	-0.28	0.09	0.05	0.01	0.02	0.29	-0.10	0.07	-0.10	0.17	-0.04	-0.04
C4-REF	0.59	0.73	0.56	0.80	0.47	0.49	0.48	0.68	1.09	0.88	0.94	0.80	0.49	0.55	0.24	0.35	0.69	0.45	-0.01	0.00	0.09	0.17	0.06	-0.29	0.03	-0.23	-0.13	0.03	-0.41	-0.15	0.06	-0.01	-0.08	0.19	-0.15	0.18	0.04	-0.01	-0.22	-0.05
F4-REF	0.68	1.01	0.85	1.00	0.75	0.77	0.57	0.53	0.79	0.78	0.62	0.53	0.65	0.80	0.60	0.67	0.79	0.78	0.32	0.40	0.37	0.23	0.42	0.16	0.44	0.37	0.33	-0.05	0.31	0.03	0.01	0.32	0.06	-0.04	0.02	-0.04	0.29	0.19	0.12	0.18
P6-REF	0.58	0.98	0.90	1.07	0.84	0.80	0.48	0.41	0.74	0.68	0.81	0.66	0.63	0.89	0.71	0.69	0.73	0.74	0.25	0.19	0.07	-0.06	0.16	0.09	0.26	0.27	0.34	-0.15	0.24	0.01	0.10	0.23	0.05	-0.06	-0.22	0.07	0.28	0.17	0.17	0.17
T4-REF	0.50	0.97	0.69	0.63	0.30	0.16	0.04	0.09	0.34	0.16	0.26	0.19	0.17	0.30	0.14	0.18	0.32	0.31	0.04	0.00	-0.12	-0.11	0.07	0.08	-0.01	-0.01	-0.04	-0.21	-0.02	-0.01	0.03	0.00	0.02	0.00	-0.04	0.02	0.05	-0.09	-0.02	-0.01
T6-REF	0.35	0.97	0.80	0.83	0.65	0.25	0.22	0.33	0.58	0.64	0.37	0.60	0.50	0.63	0.50	0.61	0.42	0.49	0.35	0.00	0.03	0.06	0.33	0.48	0.10	0.25	-0.05	-0.06	0.17	0.12	0.15	0.17	0.11	-0.04	-0.01	0.18	0.19	0.06	0.15	0.07
F3-REF	0.54	0.90	0.53	0.62	0.29	0.13	0.07	0.11	0.24	0.24	0.22	0.18	0.11	0.07	-0.07	-0.01	-0.01	-0.10	0.05	-0.04	-0.03	-0.02	-0.17	-0.01	-0.05	-0.06	-0.19	-0.19	0.01	-0.08	-0.07	0.04	0.09	0.04	-0.13	-0.02	0.01	-0.13	-0.13	
C3-REF	0.55	0.81	0.60	0.81	0.52	0.28	0.53	0.67	1.02	1.04	0.80	0.63	0.73	0.65	0.48	0.30	0.28	0.19	0.26	0.21	-0.02	0.03	0.15	-0.36	0.17	-0.06	0.05	-0.32	-0.45	0.14	0.01	0.09	0.06	0.31	0.18	-0.28	0.41	0.05	-0.06	-0.10
P3-REF	0.65	0.95	0.83	0.89	0.62	0.69	0.45	0.42	0.61	0.64	0.36	0.52	0.33	0.49	0.70	0.33	0.53	0.45	0.21	0.40	0.04	-0.09	0.31	-0.06	0.37	0.04	0.27	-0.19	-0.09	-0.02	-0.13	0.14	-0.34	-0.05	0.05	-0.07	-0.10	0.20	-0.12	-0.21
P5-REF	0.70	0.99	0.81	0.95	0.89	0.76	0.35	0.41	0.73	0.65	0.51	0.77	0.45	0.61	0.84	0.52	0.59	0.49	0.39	0.16	-0.38	-0.18	0.18	-0.01	0.36	0.06	0.23	-0.19	0.05	0.23	0.03	0.17	0.04	-0.04	-0.11	-0.10	0.13	0.29	0.10	0.00
T3-REF	0.47	0.94	0.59	0.56	0.23	0.10	0.00	0.02	0.14	0.11	0.22	0.11	0.06	0.06	0.06	0.00	0.09	0.18	0.05	-0.01	-0.19	-0.24	0.06	0.06	-0.03	0.01	-0.04	-0.28	-0.01	0.06	0.02	-0.02	0.02	0.04	-0.14	-0.12	0.02	-0.03	-0.09	0.10
T5-REF	0.39	0.94	0.73	0.82	0.68	0.36	0.27	0.61	0.56	0.62	0.48	0.69	0.68	0.71	0.79	0.45	0.46	0.41	0.41	0.38	0.09	-0.08	0.22	0.21	0.01	0.08	-0.02	-0.25	0.07	0.25	-0.06	0.23	0.21	0.23	0.00	0.05	0.13	0.20	0.50	0.32

Obr. 27. Rozdíl absolutního výkonu v jednotlivých elektrodách indukovaného psilocinem a antagonistou 5HT2C receptoru oproti psilocinu samotnému v maximu účinku (50.-60. minuta). Legenda viz obr. 23. Antagonista 5HT2C receptoru s psilocinem vedl ke zvýšení výkonu s převahou v nižších frekvencích oproti psilocinu samotnému, hodnoty nedosahovaly hladiny významnosti.

4.3.3.1.4. Účinek klozapinu

Klozapin zvyšoval absolutní spektrální výkon v pásmech delta – alfa, částečně i beta a naopak snižoval výkon v pásmu vysoká beta – gama. Pokud byl podán v kombinaci s psilocinem, vedl ke zvýšení absolutního výkonu ve frekvencích theta – beta, hladiny významnosti dosáhla změna pouze v pásmu beta (obr. 28) bez jednoznačné lokalizace (obr. 29). Toto zvýšení absolutního výkonu bylo patrné ve všech časových úsecích s maximem ve 20.-30. minutě po podání látek.



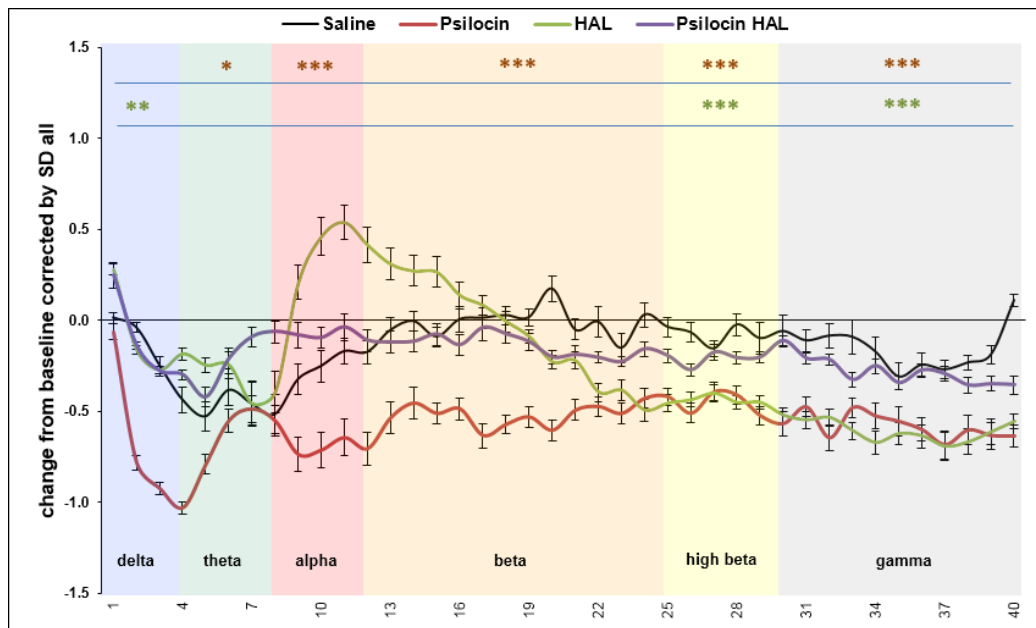
Obr. 28. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek klozapinu v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze spektra v všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

ELEKTR.	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz	5 Hz	6 Hz	7 Hz	8 Hz	9 Hz	10 Hz	11 Hz	12 Hz	13 Hz	14 Hz	15 Hz	16 Hz	17 Hz	18 Hz	19 Hz	20 Hz	21 Hz	22 Hz	23 Hz	24 Hz	25 Hz	26 Hz	27 Hz	28 Hz	29 Hz	30 Hz	31 Hz	32 Hz	33 Hz	34 Hz	35 Hz	36 Hz	37 Hz	38 Hz	39 Hz	40 Hz
T4-REF	-0.02	0.83	0.84	1.04	1.12	1.17	1.29	1.36	2.27	2.16	2.31	2.22	1.97	1.57	1.29	1.14	1.22	1.26	1.09	1.06	1.03	0.89	1.04	0.78	0.76	0.85	0.82	0.80	0.68	0.66	0.56	0.60	0.14	0.41	0.62	0.81	0.40	0.57	0.64	0.56
C4-REF	0.05	0.75	1.22	2.02	1.80	1.51	2.61	3.15	3.54	3.32	3.63	3.72	2.92	2.52	2.17	2.31	2.08	1.65	1.34	1.49	1.57	1.36	1.20	0.99	0.95	1.18	0.91	0.96	1.01	0.77	0.67	0.93	0.37	0.57	0.61	0.67	0.45	0.56	0.57	0.62
P4-REF	-0.18	0.86	1.32	1.86	1.57	1.29	1.62	2.13	3.45	3.50	3.16	3.20	2.63	2.42	2.46	2.20	2.15	1.89	1.58	1.70	1.75	1.52	1.74	0.92	1.09	1.22	1.21	0.88	1.01	0.76	0.84	1.06	0.50	0.90	0.82	0.47	0.72	0.46	0.63	0.67
P6-REF	-0.03	0.70	1.17	1.56	1.32	0.98	1.20	1.59	2.73	2.76	2.82	2.51	2.41	2.32	2.19	1.97	1.88	1.51	1.14	1.08	0.87	0.63	0.75	0.43	0.55	0.67	0.58	0.41	0.58	0.53	0.34	0.60	0.38	0.26	0.42	0.35	0.41	0.19	0.38	0.37
T4-REF	-0.06	0.83	1.09	1.25	0.84	0.55	0.60	0.79	1.34	1.33	1.33	1.22	1.23	1.29	1.11	0.95	1.07	0.93	0.68	0.57	0.46	0.34	0.42	0.26	0.33	0.34	0.16	0.20	0.21	0.26	0.19	0.23	0.17	0.24	0.21	0.24	0.21	0.13	0.22	0.21
T6-REF	-0.17	0.84	1.25	1.56	1.50	1.14	1.35	1.95	2.70	2.69	2.45	2.71	2.41	2.29	1.87	1.58	1.81	1.33	1.31	0.88	0.72	0.64	0.60	0.43	0.45	0.48	0.31	0.36	0.29	0.37	0.38	0.31	0.38	0.22	0.24	0.29	0.23	0.12	0.20	0.28
F3-REF	-0.22	0.76	1.03	1.31	0.99	0.84	0.76	0.93	1.15	1.10	1.05	1.12	0.96	0.80	0.66	0.68	0.55	0.47	0.47	0.52	0.41	0.38	0.36	0.26	0.24	0.26	0.15	0.24	0.25	0.24	0.19	0.23	0.29	0.27	0.19	0.13	0.13	0.17	0.19	0.13
C3-REF	-0.03	0.78	1.17	1.78	1.77	1.81	2.63	3.29	3.88	3.83	3.90	3.65	3.05	2.64	2.51	2.27	1.77	1.67	1.65	1.94	1.53	1.16	1.15	0.84	0.95	1.07	0.83	0.95	0.83	0.90	0.61	0.81	0.94	0.80	0.75	0.42	0.59	0.62	0.40	0.39
P3-REF	0.08	0.74	1.14	1.48	1.45	1.30	1.67	2.13	2.89	3.01	3.00	2.87	2.16	1.95	2.10	1.64	1.60	1.35	1.09	1.28	1.15	1.01	1.32	0.78	0.97	0.98	0.83	0.74	0.83	0.79	0.73	0.81	0.64	0.79	0.65	0.58	0.97	0.62	0.78	0.71
P5-REF	0.08	0.71	1.08	1.37	1.44	1.10	1.46	1.92	2.88	3.21	3.34	3.15	2.37	2.03	2.05	1.91	1.52	1.37	1.15	1.09	0.74	0.73	0.87	0.58	0.65	0.67	0.36	0.44	0.62	0.51	0.52	0.48	0.41	0.33	0.31	0.22	0.62	0.27	0.51	0.54
T3-REF	-0.02	0.79	1.15	1.20	0.79	0.47	0.38	0.56	0.95	1.00	1.11	0.97	0.83	0.92	0.78	0.72	0.66	0.77	0.57	0.51	0.32	0.34	0.34	0.31	0.26	0.21	0.13	0.18	0.18	0.18	0.22	0.21	0.21	0.20	0.13	0.16	0.17	0.06	0.18	0.23
T5-REF	-0.21	0.65	1.17	1.50	1.13	1.39	2.27	2.71	2.80	2.68	2.71	2.46	2.17	1.78	1.44	1.55	1.94	1.07	0.84	0.59	0.78	0.69	0.50	0.38	0.40	0.17	0.42	0.32	0.43	0.51	0.51	0.30	0.36	0.32	0.31	0.39	0.21	0.59	0.58	

Obr. 29. Rozdíl absolutního výkonu v jednotlivých elektrodách indukovaného psilocinem a klozapinem oproti psilocinu samotnému v maximu účinku (20.-30. minuta). Legenda viz obr. 23. Klozapin s psilocinem vedl ke zvýšení výkonu napříč celým spektrem oproti psilocinu samotnému, hodnoty téměř nedosahovaly hladiny významnosti.

4.3.3.1.5. Účinek haloperidolu

Haloperidol signifikantně zvyšoval absolutní výkon na pomezí pásem alfa / beta a naopak ho významně snižoval ve vyšších frekvencích (vysoká beta a gama). Pokud byl podán v kombinaci s psilocinem, vedl ke statisticky nevýznamné normalizaci absolutního výkonu napříč spektrem ve 20-30 minutě (obr. 30) bez lokalizace (obr. 31), v pozdějších časových úsecích přetrvávala normalizace pouze v nižších frekvenčních pásmech.



Obr. 30. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek haloperidolu v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

ELEKTR.	1 Hz	2 Hz	3 Hz	4 Hz	5 Hz	6 Hz	7 Hz	8 Hz	9 Hz	10 Hz	11 Hz	12 Hz	13 Hz	14 Hz	15 Hz	16 Hz	17 Hz	18 Hz	19 Hz	20 Hz	21 Hz	22 Hz	23 Hz	24 Hz	25 Hz	26 Hz	27 Hz	28 Hz	29 Hz	30 Hz	31 Hz	32 Hz	33 Hz	34 Hz	35 Hz	36 Hz	37 Hz	38 Hz	39 Hz	40 Hz	
T4-REF	0.34	0.58	0.43	0.61	0.12	0.26	0.30	0.38	0.50	0.60	0.48	0.55	0.39	0.34	0.10	0.14	0.37	0.50	0.33	0.30	0.36	0.22	0.46	0.06	0.12	0.46	0.11	0.12	0.26	0.57	0.35	0.48	0.58	0.33	0.41	0.54	0.47	0.56	0.43	0.23	
C4-REF	0.32	0.54	0.57	0.87	0.29	0.38	0.46	0.69	0.92	0.84	0.59	0.50	0.54	0.49	0.50	0.50	0.75	0.48	0.33	0.39	0.48	0.34	0.19	0.15	0.13	0.47	0.19	0.28	0.42	0.52	0.33	0.66	0.01	0.38	0.27	0.55	0.39	0.37	0.36	0.29	
P4-REF	0.47	0.62	0.57	0.71	0.31	0.40	0.42	0.60	0.84	0.85	0.74	0.80	0.39	0.22	0.66	0.58	0.89	0.72	0.50	0.53	0.54	0.50	0.43	0.41	0.44	0.34	0.57	0.35	0.50	0.44	0.40	0.76	0.15	0.37	0.40	0.45	0.62	0.42	0.52	0.50	
P6-REF	0.23	0.57	0.63	0.76	0.30	0.30	0.38	0.42	0.63	0.64	0.66	0.57	0.33	0.36	0.58	0.52	0.87	0.71	0.46	0.39	0.25	0.12	0.12	0.22	0.14	0.13	0.19	0.11	0.30	0.29	0.23	0.59	0.08	0.13	-0.01	0.26	0.34	0.21	0.30	0.33	
T4-REF	0.18	0.77	0.74	0.64	0.35	0.21	0.10	0.17	0.30	0.17	0.22	0.19	0.22	0.23	0.14	0.17	0.39	0.32	0.15	0.18	0.16	0.08	0.11	0.15	0.05	0.07	-0.02	0.05	0.09	0.11	0.05	0.16	0.04	0.09	0.03	0.12	0.11	0.03	0.03	0.07	
T6-REF	0.15	0.60	0.74	0.81	0.59	0.30	0.47	0.49	0.73	0.34	0.73	0.57	0.68	0.49	0.53	0.43	0.83	0.67	0.67	0.44	0.34	0.39	0.63	0.72	0.35	0.19	0.13	0.38	0.41	0.61	0.34	0.44	0.23	0.33	0.01	0.31	0.29	0.11	0.06	0.16	
F3-REF	0.29	0.71	0.60	0.69	0.22	0.30	0.28	0.30	0.43	0.38	0.32	0.41	0.28	0.24	0.11	0.17	0.20	0.20	0.15	0.17	0.12	0.13	0.13	0.03	0.03	0.03	0.00	0.08	0.10	0.22	0.10	0.11	0.15	0.19	0.13	0.11	0.13	0.17	0.18	0.07	
C3-REF	0.38	0.62	0.58	0.83	0.33	0.50	0.72	0.90	1.17	1.16	1.08	0.96	0.62	0.52	0.50	0.40	0.52	0.39	0.36	0.51	0.14	0.26	0.26	-0.05	0.18	0.25	0.16	0.31	0.18	0.73	0.41	0.45	0.36	0.53	0.64	0.35	0.45	0.57	0.49	0.23	
P3-REF	0.48	0.58	0.60	0.67	0.38	0.40	0.57	0.67	0.75	0.70	0.66	0.75	0.45	0.20	0.62	0.28	0.74	0.47	0.42	0.54	0.42	0.34	0.36	0.38	0.59	0.38	0.68	0.29	0.59	0.73	0.34	0.53	0.21	0.49	0.30	0.48	0.74	0.39	0.45	0.56	
P5-REF	0.44	0.63	0.68	0.70	0.44	0.39	0.41	0.51	0.72	0.69	0.64	0.67	0.38	0.30	0.39	0.42	0.70	0.55	0.61	0.54	0.34	0.30	0.22	0.44	0.37	0.26	0.34	0.22	0.43	0.53	0.31	0.30	0.17	0.14	0.12	0.26	0.53	0.10	0.26	0.47	
T3-REF	0.27	0.83	0.87	0.70	0.35	0.22	0.10	0.13	0.21	0.17	0.17	0.13	0.09	0.18	0.17	0.16	0.21	0.27	0.22	0.28	0.06	0.15	0.22	0.23	0.14	0.09	0.09	0.14	0.26	0.16	0.11	0.12	0.13	0.13	0.05	0.11	0.14	-0.01	0.02	0.15	
T5-REF	0.18	0.68	0.74	0.80	0.75	0.44	0.53	0.64	0.66	0.48	0.61	0.63	0.60	0.48	0.72	0.44	0.65	0.65	0.74	0.53	0.45	0.41	0.29	0.51	0.14	0.17	0.16	0.13	0.33	0.53	0.22	0.51	0.22	0.21	0.18	0.39	0.43	0.03	0.29	0.31	
	-	0.5	-0.25	0.25	0.5	+																																			

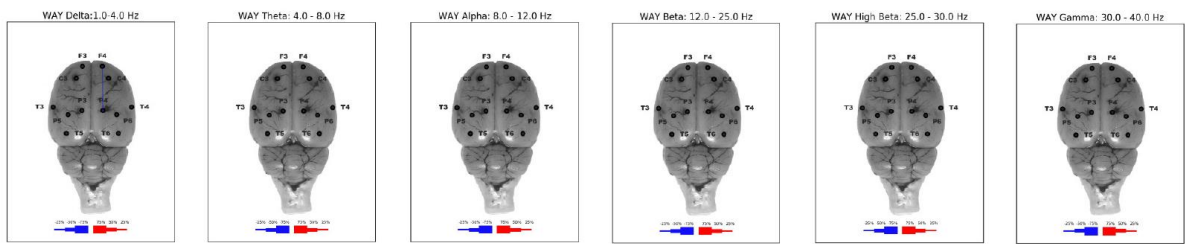
Obr. 31. Rozdíl absolutního výkonu v jednotlivých elektrodách indukovaného psilocinem a haloperidolem oproti psilocinu samotnému v maximu účinku (20.-30. minuta). Legenda viz obr. 23. Haloperidol s psilocinem vedl ke zvýšení výkonu napříč spektrem oproti psilocinu samotnému, hodnoty však nedosahovaly hladiny významnosti.

4.3.3.2. EEG koherence

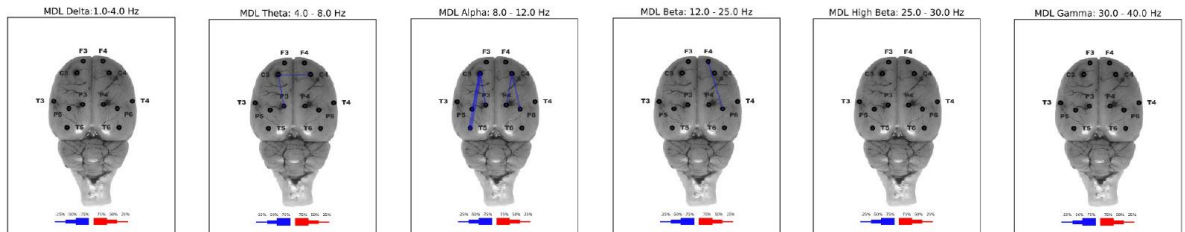
EEG koherence jsme zobrazovali ve srovnání s baseline pro látky samotné a pro kombinaci s psilocinem v době maximálního efektu látek (viz předchozí kapitola). Antagonisté serotoninových receptorů nevedli k výrazným změnám konektivity (pouze snížení fronto-temporální koherence v alfa pásmu indukované MDL). Antipsychotika snižovala frontotemporální koherence v pásmu delta, theta, beta (klozapin), resp. theta, alfa a beta (haloperidol) (obr. 32). Psilocinem indukovaná diskonekce byla ovlivněna všemi antagonisty 5HT receptorů – 5HT1A a 5HT2C antagonisté pokles konektivity normalizovaly, 5HT2A antagonist normalizoval diskonekci v pásmu delta, naopak jí prohluboval ve fronto-temporální oblasti v pásmu alfa a beta. Naopak antipsychotika spíše prohlubovala psilocinem způsobenou diskonekci v pásmu delta a beta (klozapin) či theta (haloperidol), malý efekt měla pouze na inter-hemisferální koherence (obr. 33.). Normalizace fronto-temporální konektivity 5HT antagonisty je detailně zobrazena v čase (obr. 34, 35 a 36).

Klastrová analýza EEG koherencí ukázala vliv 5HT antagonistů i antipsychotik na psilocinem vyvolané změny. Účinek samotného antagonisty 5HT1A receptoru nevedl ke vzniku klastrů, normalizoval ale klastrování způsobené psilocinem. 5HT2A antagonist indukoval vznik 3 klastrů, v kombinaci s psilocinem 5HT2A antagonist zcela normalizoval klastrování. 5HT2C antagonist vedl ke vzniku 6 klastrů, v tomto případě je jejich reálná existence již méně validní vzhledem k méně ostrému odlišení klastrovacího kritéria od fyziologického roztoku (analogicky v kombinaci s psilocinem). Klozapin vytvářel 3 klastry, v kombinaci s psilocinem nevedl k ovlivnění klastrování. Haloperidol, který sám o sobě tvořil 4 klastry, částečně normalizoval klastrování indukované psilocinem (obr. 37, 38).

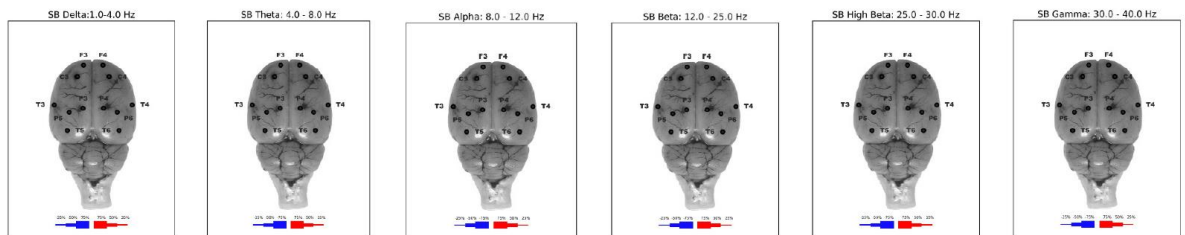
WAY 20-30 x baseline



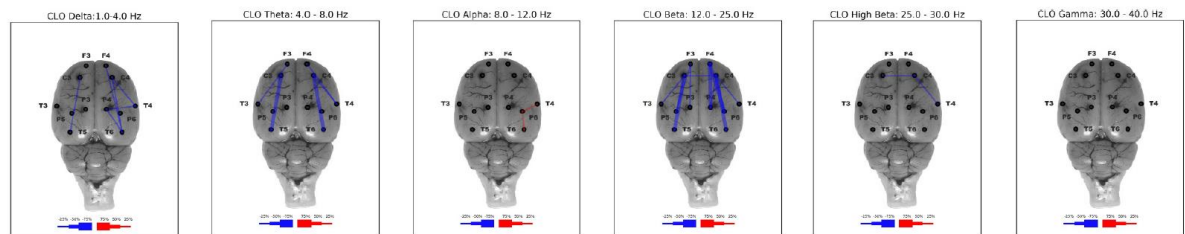
MDL 20-30 x baseline



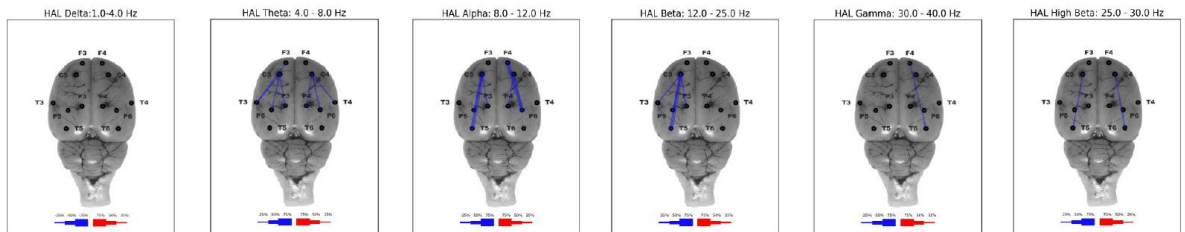
SB 50-60 x baseline



KLO 20-30 x baseline

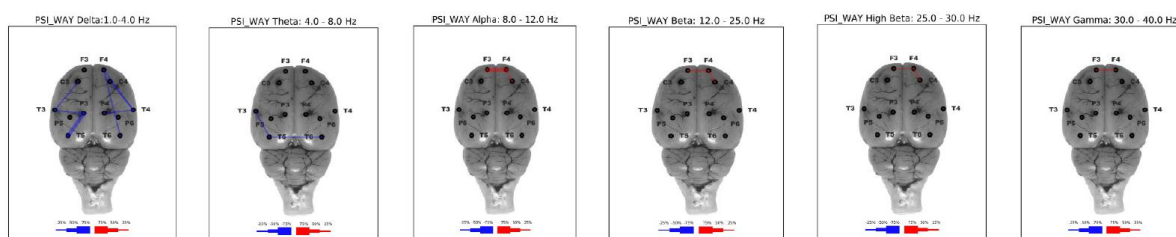


HAL 20-30 x baseline

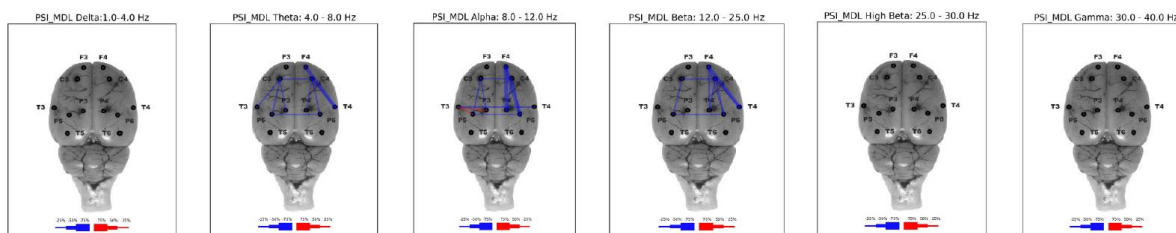


Obr. 32. EEG koherence pro jednotlivé 5HT antagonisty a antipsychotika v maximu účinku látek, zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$, procentuální pokles modře, nárůst červeně – viz legenda pod každým obrázkem mozku, tloušťky čar odpovídají nárůstu/poklesu v absolutních číslech o 25%, 50% a 75%.

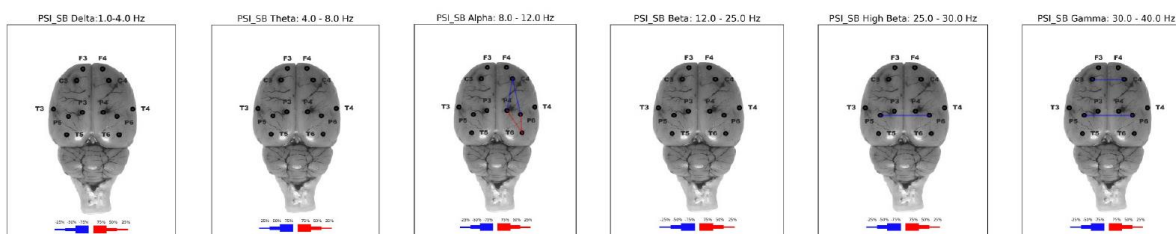
PSI+WAY 20-30 x baseline



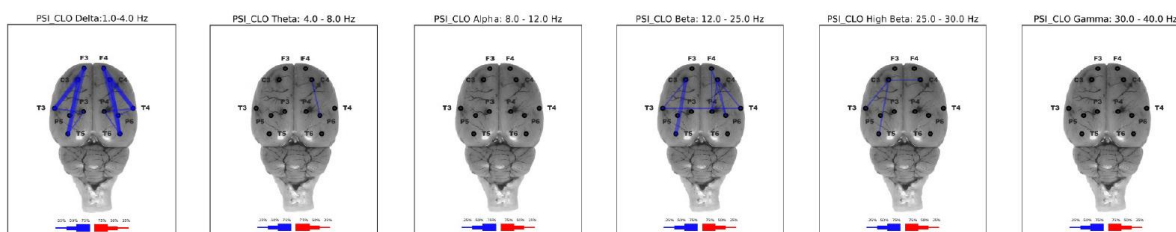
PSI+MDL 20-30 x baseline



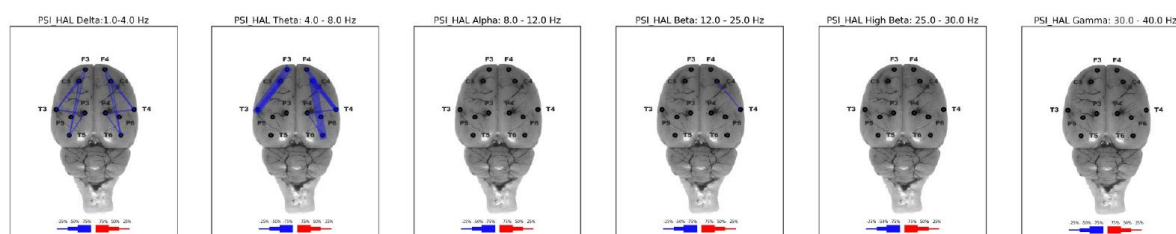
PSI+SB 50-60 x baseline



PSI+KLO 20-30 x baseline

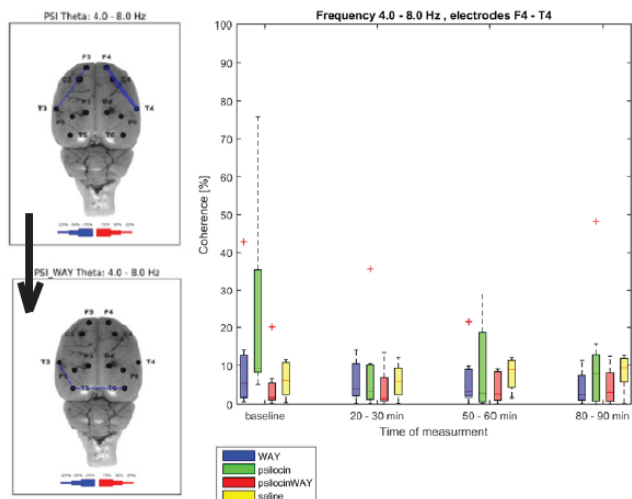


PSI+HAL 20-30 x baseline



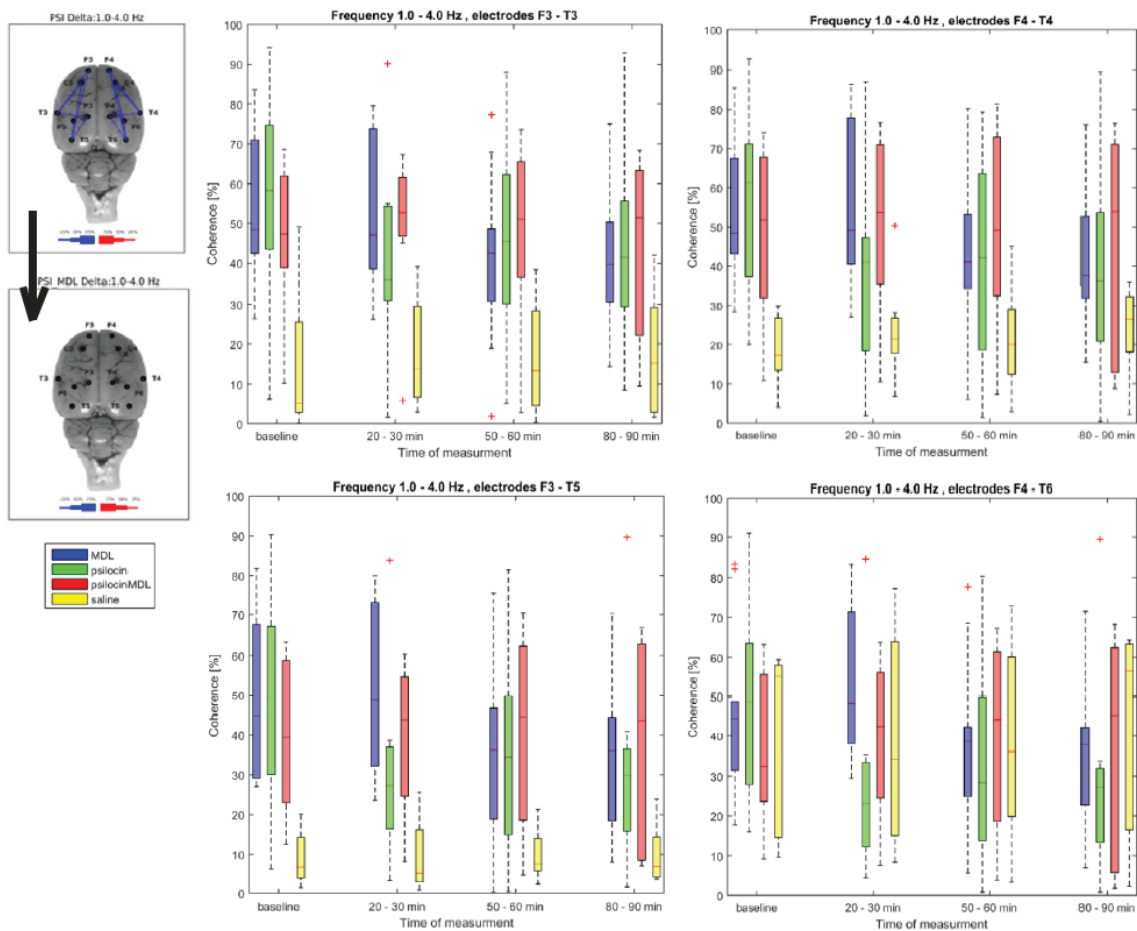
Obr. 33. EEG koherence pro kombinace psilocinu a 5HT antagonistů / antipsychotika v maximu účinku látek, zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$, procentuální pokles modře, nárůst červeně – viz legenda pod každým obrázkem mozku, tloušťky čar odpovídají nárůstu/poklesu v absolutních číslech o 25%, 50% a 75%.

WAY - normalizace theta koherence F4 - T4



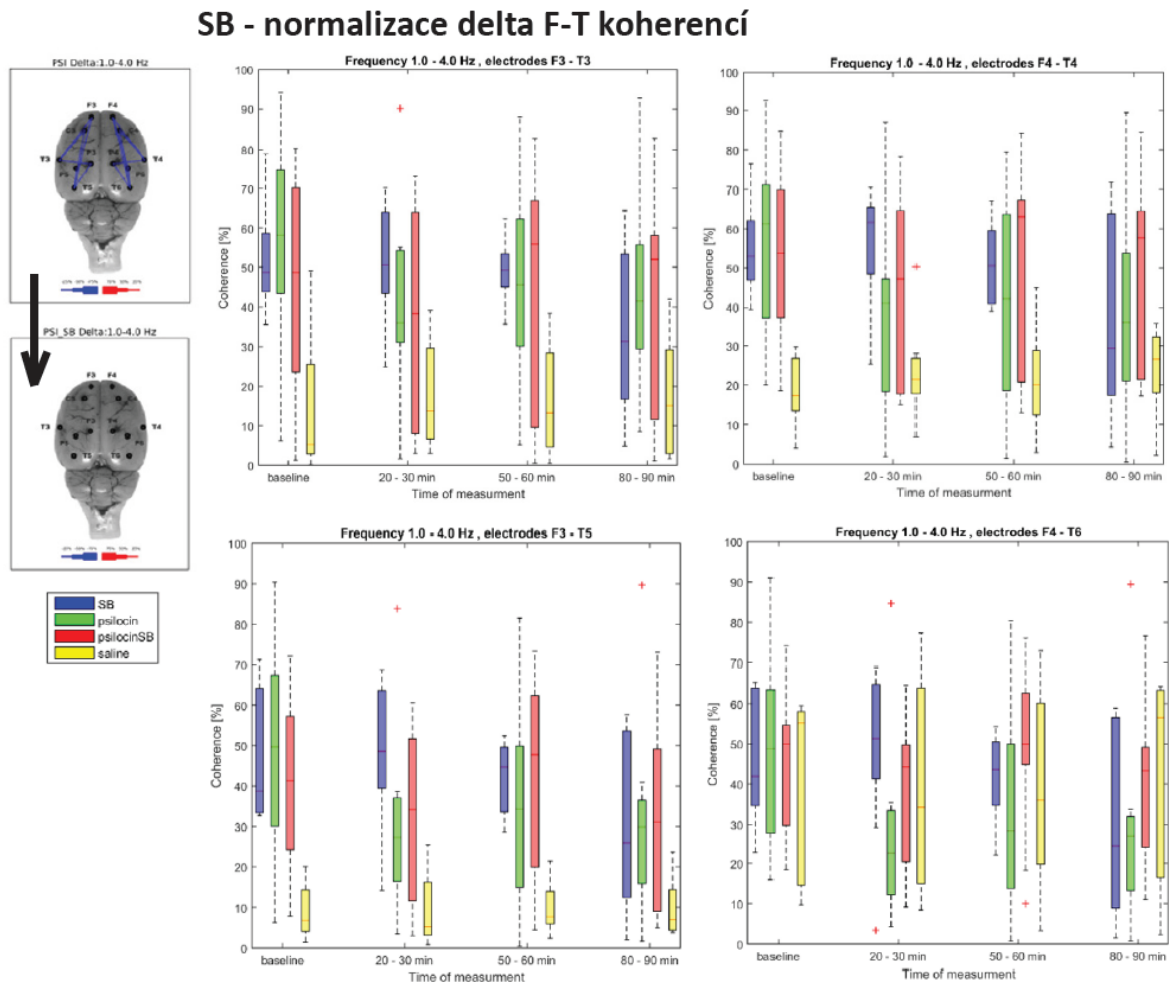
Obr. 34. Normalizace psilocinem indukované fronto-temporální diskonekce 5HT1A antagonistou. V levé části obrázku jsou znázorněny změny koherencí v pásmu zájmu u psilocinu a psilocinu s 5HT1A antagonistou v čase 20-30 minut po podání. Graf znázorňuje změnu koherence v procentech v jednotlivých časech. Boxplot znázorňuje 95% interval spolehlivosti (přerušovaná čára), rozmezí mezi dolním (25%) a horním kvartilem (75%) (samotný box), medián (červená vodorovná úsečka), červené křížky znázorňují odlehlé hodnoty (outliers).

MDL - normalizace delta F-T koherencí

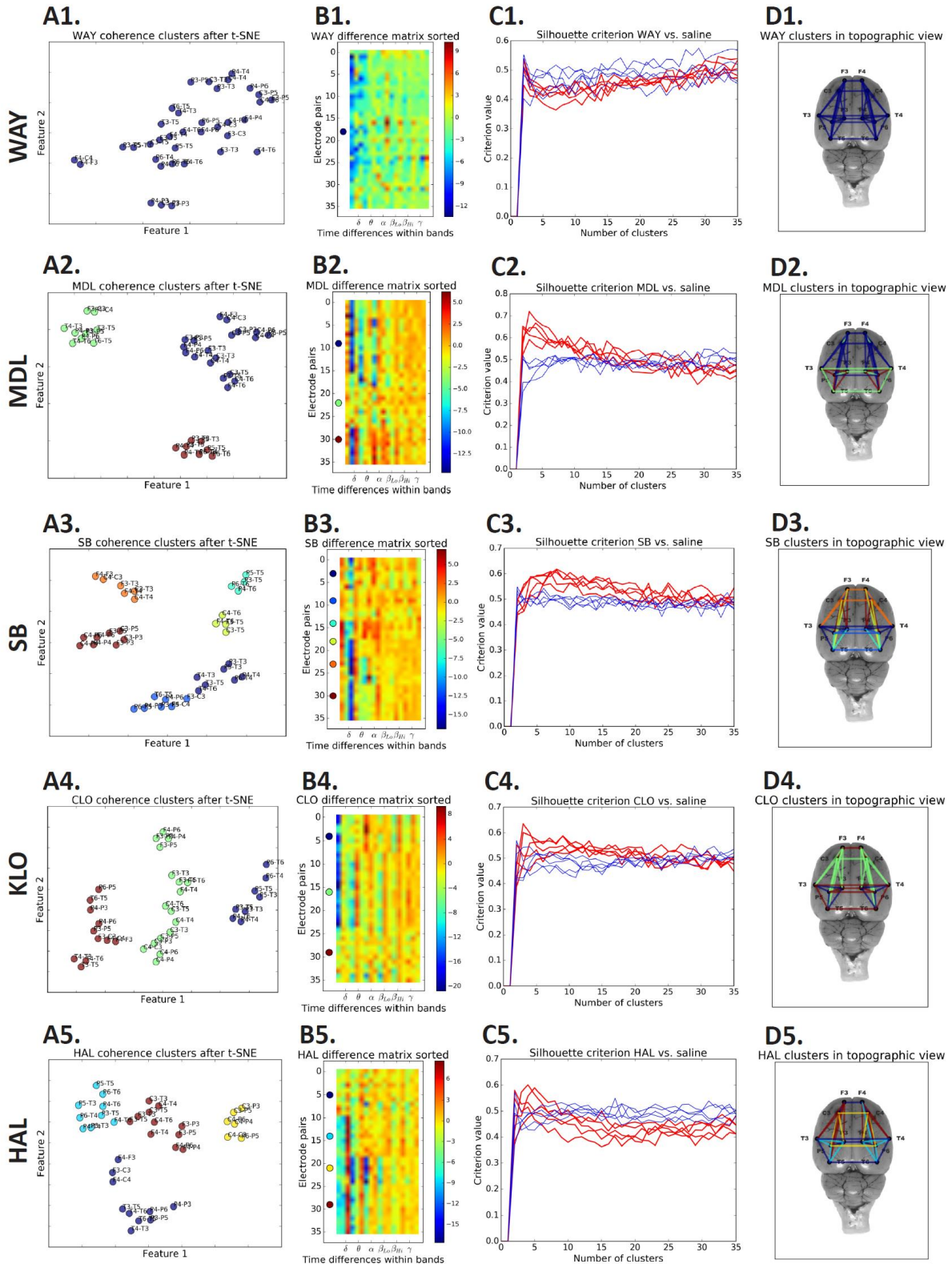


Obr. 35. Normalizace psilocinem indukované diskonekce 5HT2A antagonistou.

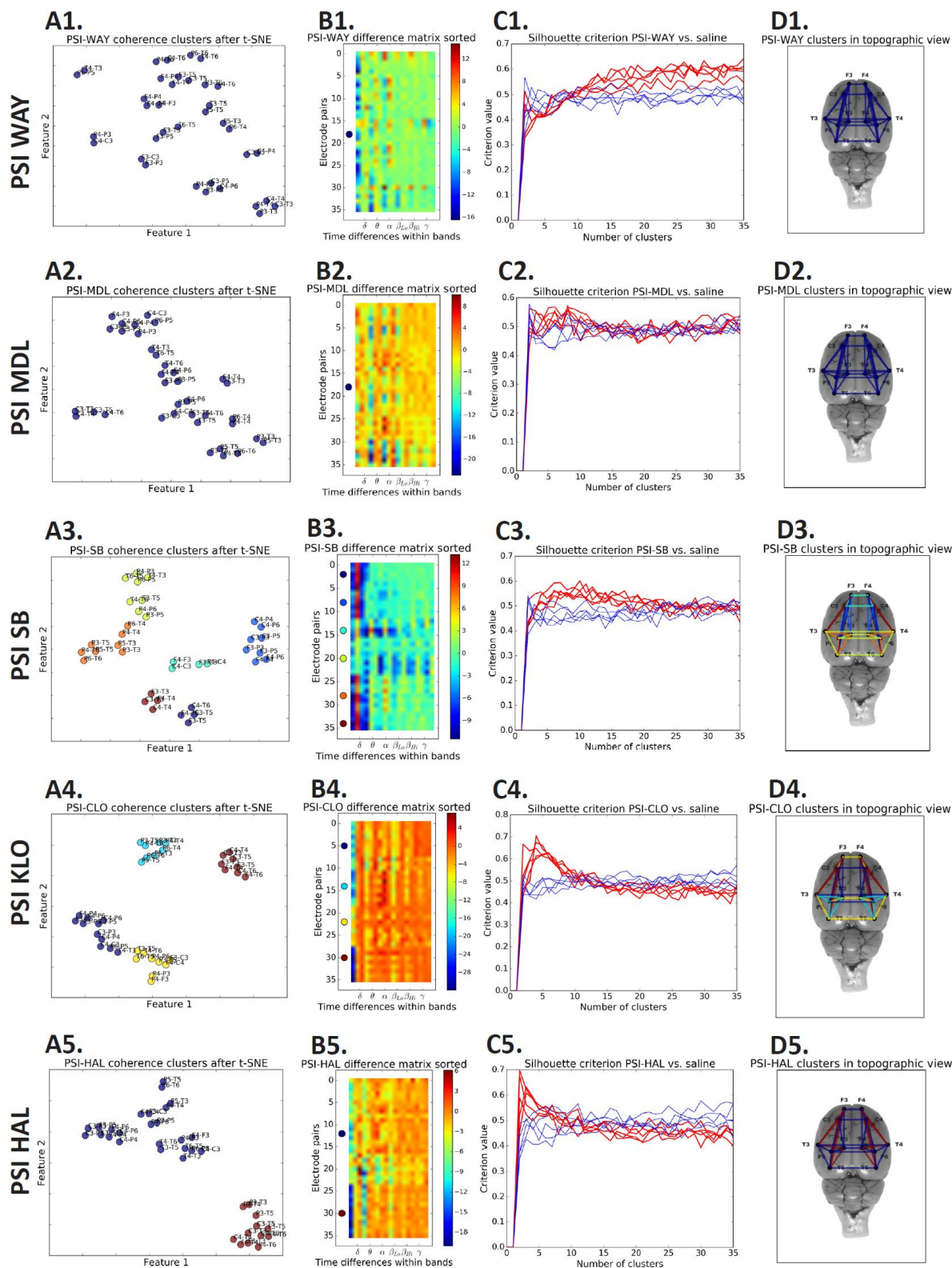
V levé části obrázku jsou znázorněny změny koherencí v pásmu zájmu u psilocinu a psilocinu s 5HT2A antagonistou v čase 20-30 minut po podání. Legenda grafu viz obr. 34.



Obr. 36. Normalizace psilocinem indukované diskonekce 5HT2C antagonistou. V levé části obrázku jsou znázorněny změny koherencí v pásmu zájmu u psilocinu a psilocinu s 5HT2C antagonistou v čase 50-60 minut po podání. Legenda grafu viz obr. 34.



Obr. 37. Klastrová analýza EEG koherencí indukovaných selektivními antagonisty 5HT receptorů a antipsychotiky. A. vizualizace klastrů koherenčních párů v 2D prostoru. B. Diferenční matice ilustrující strukturu dat (legenda zobrazení viz obr. 17.) C. Objektivizační kritérium pro počet klastrů. D. Vizualizace klastrů. 5HT1A antagonistista tvořil 1 klastr, 5HT2A antagonistista 4 klastry, 5HT2C antagonistista 6 klastrů, klozapin 3 klastry a haloperidol 4 klastry.

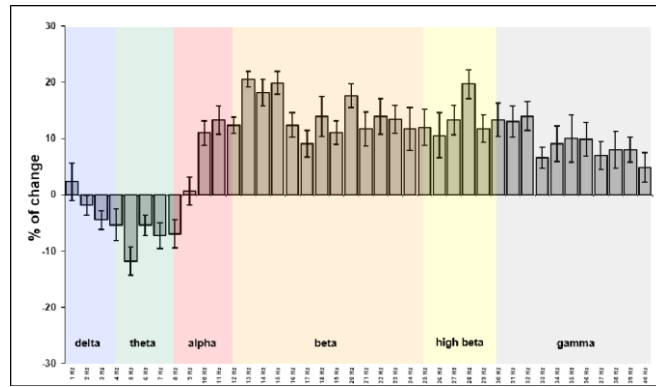


Obr. 38. Klastrová analýza EEG koherencí indukovaných kombinací psilocinu se selektivními antagonisty 5HT receptorů a antipsychotiky. A. vizualizace klastrů koherenčních párů v 2D prostoru. B. Diferenční matice ilustrující strukturu dat (legenda zobrazení viz obr. 17.) C. Objektivizační kritérium pro počet klastrů. D. Vizualizace klastrů. Psilocin v kombinaci s 5HT1A antagonistou tvořil 1 klastř, s 5HT2A antagonistou 1 klastř, s 5HT2C antagonistou 6 klastrů, s klozapinem 4 klastř a s haloperidolem 2 klastř.

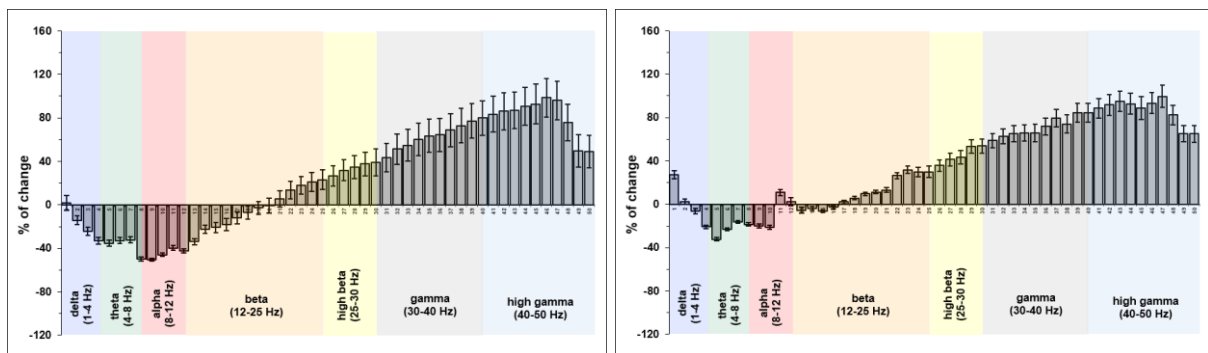
4.4. Translační validita serotonergního modelu – srovnání s humánními daty

Ověření translační validity serotonergního modelu akutní psychózy je zásadní pro jeho další využití ve výzkumu etiopatogeneze psychózy a vývoji nových antipsychotik. Jako klíčové se však jeví srovnat podobnost QEEG indukovaného intoxikací zdravých jedinců psychedeliky s QEEG změnami u intoxikovaných laboratorních potkanů (1. stupeň aproximace, viz kap. 1.2.). V nedávné době se našemu výzkumnému týmu podařilo získat pilotní data z experimentů s psilocybinem u lidských subjektů (n=18) na jejichž sběru a analýze dat jsem aktivně participoval (Palenicek, Tyls et al., 2016; Tyls, Viktorinova et al., 2016).

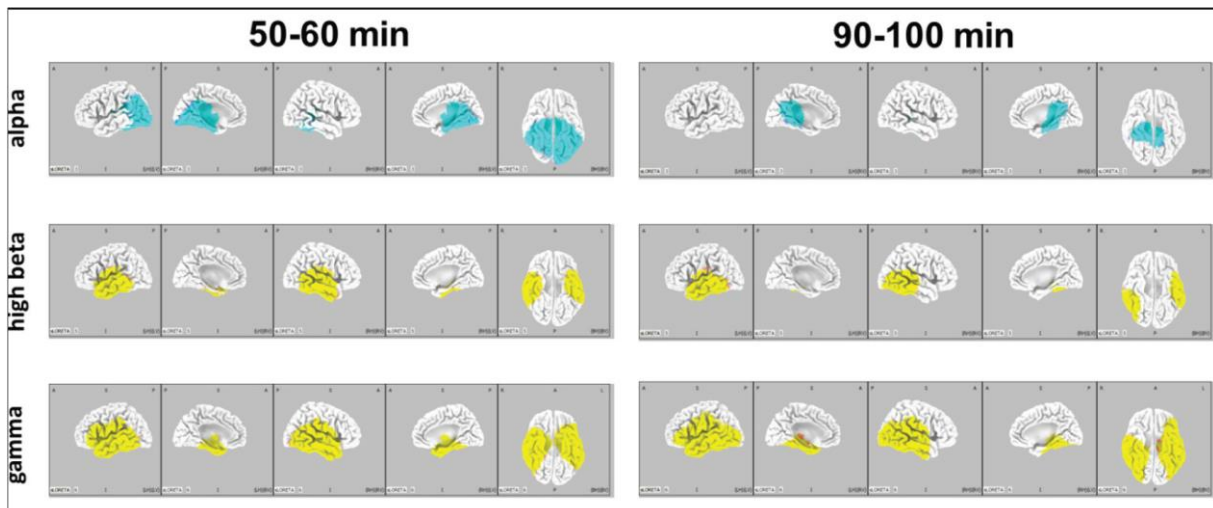
Vzhledem k faktu, že srovnáváme různé živočišné druhy, a vzhledem k již tak výrazné intra-individuální variabilitě EEG jsme pro srovnání zvolili jak absolutní, tak i relativní výkon. Na rozdíl od absolutního výkonu, kde bylo pozorováno globální snížení (popsáno výše, viz obr. 13.B), v relativních spektrech u laboratorních potkanů působil psilocin 20-30 minut po podání pokles relativního výkonu v pásmu delta a částečně theta, naopak mírný vzestup výkonu ve vyšších frekvenčních pásmech (beta, vysoká beta, gama) (obr. 39). Psilocybin 0,26 mg/kg 50-60 minut po perorálním podání ve srovnání s baseline u člověka indukoval pokles relativního výkonu v pásmu theta, výrazný pokles alfa a významný nárůst výkonu vyšších frekvenčních pásem (vysoká beta – gama), přičemž tyto změny přetrvávaly až do 90-100 minuty (pík sérových koncentrací) (Palenicek, Tyls et al., 2016; Tyls, Viktorinova et al., 2016) (obr. 40). Přestože jsou výsledky částečně odlišné, tvar křivky se velmi podobá. Vzhledem k tomu, že základní dominantní frekvenci u člověka je alfa, zatímco u potkana theta (tedy jakýsi shift směrem k pomalejším frekvencím), lze konstatovat, že psilocin vedl ke snížení výkonu v dominantní frekvenci u obou druhů. LORETA lokalizovala zdroje snížené aktivity do středočárových a okcipitálních částí kůry a zvýšení ve vyšších frekvenčních pásmech do fronto-parieto-temporálních oblastí kůry (obr. 41). Zvýšení vysokofrekvenční aktivity v temporálních oblastech má paralelu v našem animálním modelu (viz diskuse). Psilocybin zároveň působil, podobně jako psilocin u zvířat (viz obr. 20), významný pokles EEG koherencí v pásmu theta, alfa a beta (s převahou fronto-temporální diskonekce) a diskrétní zvýšení EEG koherencí ve vyšších frekvenčních pásmech beta – gama ve srovnání s baseline (obr. 42) (Palenicek, Tyls et al., 2016).



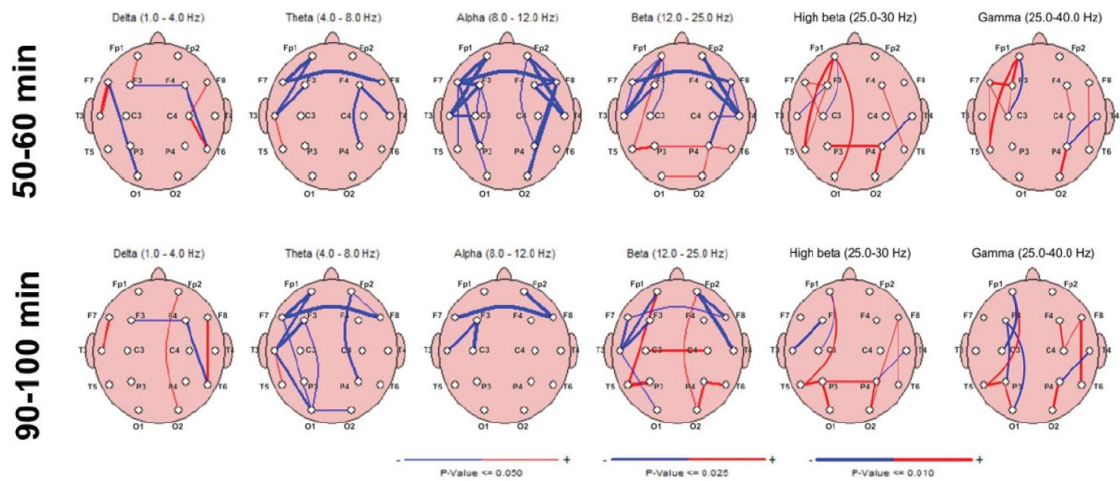
Obr. 39. Procentuální rozdíl relativního výkonu 20-30 minut po podání psilocinu potkanům oproti baseline; na ose x je vynesena frekvence 0-40 Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.



Obr. 40. Procentuální rozdíl relativního výkonu po podání psilocybinu vs. baseline v dávce 0, 26 mg/kg lidem v 50.-60. (A) a 80.-90. minutě (B); na ose x je vynesena frekvence 0-40 Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.



Obr. 41. Lokalizace zdrojů LORETA v 50.-60. (A) a 80.-90. minutě (B) po podání psilocybinu 0, 26 mg/kg vs. baseline lidem. Modrá barva odpovídá signifikantnímu snížení aktivity, žlutá barva značí její zvýšení, $p < 0,05$.



Obr. 42. EEG koherence (lidské subjekty), psilocybin v aplikaci 0, 26 mg/kg vs. baseline v 50.-60. min (A) a 80.-90. min (B); snížení modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legenda.

5. Výsledky – komentář ostatních publikací

V této části této práce jsou prezentována publikovaná data formou krátkých komentářů publikovaných článků, na kterých jsem se podílel, a dotýkají se tematicky této disertační práce.

Behaviorální, neurochemický a QEEG profil psychedelika 2C-B u potkana (Palenicek et al., 2013)

Práce popisuje profil dalšího psychedelika 2C-B v rámci animálního serotonergního modelu psychózy. Podílel jsem se na hodnocení behaviorálních experimentů, operační proceduře a vyhodnocování QEEG dat. 2C-B indukovalo časově a dávkově bifázické změny lokomoce (hypolokomoce byla následována hyperlokomocí) a deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce. Pomocí mikrodialýzy jsme v nucleus accumbens dále prokázali zvýšení hladin dopaminu a snížení hladiny kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctové. Nízké dávky 2C-B snižovaly v EEG experimentech výkon i koherence, vysoké dávky měly dočasný bifázický efekt s počátečním poklesem následovaným zvýšením výkonu a byly pozorovány snížení i zvýšení EEG koherencí. Zvýšení EEG výkonů a koherencí bylo po aplikaci 2C-B časově spojeno se zvýšením lokomoční aktivity a dopaminových hladin v nucleus accumbens.

QEEG ketaminu u potkana – korelace s účinky na chování a farmakokinetikou (Palenicek, Fujakova, Brunovsky et al., 2011)

Práce popisuje farmakokinetiku, behaviorální a QEEG změny v glutamátergním modelu psychózy s ketaminem. Podílel jsem se na hodnocení behaviorálních dat. Ketamin způsobil hyperlokomoci a deficit v PPI a vedl ke zvýšení EEG absolutního výkonu i EEG koherencí. Maximální QEEG změny korelovaly s jeho farmakokinetikou. V analýze dat této studie jsme hodnotili všechny úseky EEG záznamu bez ohledu na behaviorální aktivitu potkanů. Vzhledem k pozorovanému hyperlokomočnímu účinku ketaminu lze QEEG změny z velké části přisoudit vlivu pohybové aktivity potkanů.

Účinek mGlu2/3 agonisty na QEEG v ketaminovém modelu psychózy (Fujakova et al., 2014)

V této práci jsme se zaměřili opět na hodnocení behaviorálních a QEEG změn v glutamátergním modelu psychózy a možnost jejich ovlivnění selektivním agonistou mGlu2/3 receptorů. Podílel jsem se na operačních procedurách a EEG sběru dat. Agonista mFlu2/3 normalizoval ketaminem indukovanou hyperlokomoci, ale neměl vliv na deficit v PPI. V této studii jsme při analýze QEEG dat již vyhodnocovali pouze úseky odpovídající behaviorální inaktivitě. Ketamin snížil EEG výkon v pásmu delta, zvyšoval EEG výkon vyšších frekvenčních pásem a vedl ke snížení EEG koherencí. Nárůst

výkonu ve vyšších frekvencích a částečně i diskonekce byla normalizována agonistou mGlu2/3 receptorů. Následná analýza QEEG dat odhalila, že behaviorální aktivita vede k nárůstu EEG výkonu i EEG koherenci ve většině frekvenčních pásmech.

Toxita MDAI – farmakokinetika, chování, termoregulace a LD50 u potkana (Palenicek, Lhotkova et al., 2016)

Práce se zaměřuje na akutní účinky MDAI (5,6-methylenedioxy-2-aminoindan), rekreačně užívaná serotonergní syntetická drogy, která je charakterem svého působení podobná serotonergním psychedelikům a především MDMA. Participoval jsem na behaviorálních experimentech. Jelikož bylo u této látky zaznamenáno několik úmrtí, zaměřili jsme se na prostudování jejích akutních účinků (farmakokinetika, lokomoce, PPI, termoregulace, systémová toxicita) v animálním modelu. MDAI zvyšovalo exploraci, narušovalo PPI, způsobovalo hypertermii a vedlo ke známkám behaviorálního serotoninového syndromu a. Nečekaně byla dávka 40mg/kg letální pro 90% zvířat, příčinou smrti byla diseminovaná intravaskulární koagulopatie.

Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy – implikace pro řízení motorových vozidel (Balíková et al., 2014)

Tato práce se věnuje farmakokinetice psychoaktivní součásti marihuany THC u lidských dobrovolníků. Jedná se pouze o část dat ze širší studie zaměřené na QEEG, PPI a psychometrické proměnné, ve které jsem prováděl dobrovolníky celým experimentem. Jelikož lze THC využít k modelování psychózy, budou QEEG a PPI data z této studie srovnatelná s daty obsaženými v této disertaci. Studie prokázala, že u rekreačních uživatelů nejsou detekovatelné hladiny již 4 hodiny po užití běžné dávky, u chronických uživatelů měřené hladiny přetrvávají výrazně déle, v některých případech i permanentně. Krevní hladina THC u řidiče sama o sobě nemusí přímo dokumentovat míru ovlivnění.

Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací – animální model psychózy (Palenicek, Fujakova, Tyls et al., 2011)

Práce srovnává vliv tryptaminového (psilocin) a fenylethylaminového (mezkalin) halucinogenu na PPI a QEEG. V práci jsou zčásti obsažena data prezentovaná ve výsledcích (PPI indukovaný psilocinem a QEEG změny po psilocinu a mezkalinu). Participoval jsem na sběru i analýze dat.

6. Diskuse

6.1. Hlavní nálezy

Psilocin indukuje charakteristický behaviorální vzorec laboratorních potkanů, snižuje lokomoci cestou 5HT1A a 5HT2C receptorů a částečně narušuje sensorimotorické zpracování informace, přičemž samice na vrcholu cyklu jsou k těmto účinkům rezistentnější. Psilocin vede, podobně jako další serotonergní psychedelika, ke snížení absolutního výkonu a narušení EEG konektivity, na kterém se podílejí 5HT1A, 5HT2A i 5HT2C receptory. Antipsychotika normalizují pouze změny v absolutním výkonu indukované psilocinem, zatímco selektivní serotonergní antagonisté normalizují absolutní výkon, ale také částečně kompenzují diskonekci. Naše data potvrdila translační validitu serotonergního modelu psychózy.

6.2. Výsledky farmakokinetiky

Na základě farmakokinetiky serotonergních halucinogenů je možné rozlišovat krátkodobě působící (psilocin) a dlouhodobě působící (mezkalin, DOB) serotonergní psychedelika. Po subkutánním podání psilocinu a psilocybinu dochází k rychlému dosažení maximálních koncentrací v séru (v 30. minutě) a stejně tak i v mozku (v 30-60. minutě), což naznačuje jeho snadný prostup přes hematoencefalickou bariéru. Společně s výraznou akumulací v mozkové tkáni to svědčí o výrazné lipofilitě psilocinu. Podobná farmakokinetika byla popsána i po podání intraperitoneálním (Saito et al., 2004). Tyto farmakokinetické vlastnosti řadí psilocin / psilocybin mezi rychle účinkující serotonergní psychedelika. Podobně jednorázová intraperitoneální aplikace LSD 0,5 mg/kg způsobí rychlý pík sérové koncentrace (10. minuta), který však klesá do 5. hodiny po podání (Nakahara et al., 1996). O něco pomaleji působí mezkalin, jeho podkožní podání v dávce 20 mg/kg potkanům dosahuje sérového maxima po 30-ti minutách a rychle klesá do 120. minuty, maximální koncentrace v mozku má vrchol v 60. minutě (Palenicek et al., 2008). Účinek DOB je pomalejší a trvá podstatně déle, po podkožní aplikaci 20 mg/kg jeho koncentrace dosahuje maxima v plazmě po 2 hodinách od podání (v mozku již po jedné hodině) a klesá velmi pomalu až do 30. hodiny (v mozku 15 hodin) (Berankova et al., 2007).

6.3. Behaviorální výsledky

Psilocin vede v dávkové závislosti k typickým behaviorálním vzorcům chování charakterizovaným jako behaviorální serotoninový syndrom a k inhibici lokomoce. Na rozdíl od mezkalinu, který narušuje v dávkové závislosti prepulzní inhibici úlekové reakce (Palenicek, Fajakova, Tyls et al., 2011), psilocin tak činí pouze ve střední dávce (1 mg/kg). Samice, zejména v období estru a proestru, jsou k těmto behaviorálním účinkům méně citlivé než samci. Ačkoliv za psychedelický účinek psilocinu je zodpovědný především 5HT_{2A} receptor (který částečně zprostředkovává PPI), za snížení lokomoce jsou zodpovědné především 5HT_{1A} a 5HT_{2B/C} receptory. Detailní diskuse k behaviorálním výsledkům v přiložené publikaci (Tyls, Palenicek et al., 2016).

Naše laboratoř má k dispozici behaviorální data s dalšími psychedeliky. V předchozích studiích jsme pozorovali hypolokomoční účinek (LSD) (Palenicek et al., 2010) či bifázický účinek na lokomoci (mezkalin, 2C-B) (Palenicek et al., 2008; Palenicek et al., 2013), který kontrastuje s hyperlokomočním účinkem dopaminergních (amfetamin) (Sills et al., 1998; White et al., 2006) a glutamátergických (MK-801) látek (Bubenikova-Valesova et al., 2008). Obvykle je považována za model pozitivních příznaků psychózy právě hyperlokomoce (Bubenikova-Valesova et al., 2008). Celkové snížení trajektorie potkanů indukované 5HT halucinogeny lze přičítat sedaci a ataxii, která se projevovala imobilitou, snížením čenichání, čištění, explorační a atypickým behaviorálním vzorcům, které jsou součástí serotoninového syndromu („wet dog shakes“, „flat body posture“). Fenylethylaminy (mezkalin a 2C-B) narušovaly PPI v dávkové závislosti (Palenicek et al., 2013; Palenicek, Fajakova, Tyls et al., 2011), zatímco psilocin měl bifázický účinek. Jelikož deficit v PPI zprostředkovává především 5HT_{2A} a částečně 5HT_{1A} receptor, může ho ve vyšších dávkách teoreticky kompenzovat aktivita psilocinu na 5HT_{2C} receptoru (Tyls, Palenicek et al., 2016).

6.4. Vliv psilocinu na QEEG ve srovnání s kontrolní skupinou

Fyziologický roztok vedl pouze ke snížení absolutního EEG výkonu v pásmu theta a to pouze ve 20.-30. minutě po podání. Jelikož je theta základní aktivitou potkana (viz kapitola 1.3.), lze její iničiální snížení považovat za projev aktivace způsobené aplikací látek v 10. minutě (analogicky k desynchronizaci lidského EEG při otevření očí). Změny konektivity u kontrolních zvířat byly nevýznamné a ani klastrová analýza neodhalila žádné konektivní sítě.

Psilocin snížil průměrný EEG výkon oproti baseline napříč celým spektrem 20-30 i 50-60 minut po podání, 80-90 minut po podání již účinek odezníval. Maximum snížení bylo v pásmu základní aktivity theta. Analogické změny v EEG aktivitě (narušení základní aktivity a desynchronizace) po podání halucinogenů byly popsány v raných EEG studiích u zvířat, i u lidí (viz kapitola 1.4.). Shodně s našimi animálními daty bylo v MEG po psilocybinu a LSD u lidí také popsáno snížení výkonu napříč spektrem s maximem v základní aktivitě alfa (Carhart-HarrisMuthukumaraswamy et al., 2016; Muthukumaraswamy et al., 2013). Oproti tomu QEEG nálezy pacientů se schizofrenií popisují snížení absolutního výkonu ve vysokofrekvenčních oblastech a nárůst pomalovlných aktivit (Brunovský, 2004).

Detailnější pohled na změny výkonu v různých částech mozku potkana však odhalil kromě snížení absolutního výkonu po psilocinu oproti kontrolní skupině i nárůst výkonu ve frekvenčních oblastech theta a gama nad temporálními a parietálními oblastmi kůry. Jedním z možných vysvětlení může být limbická hyperaktivita, jelikož se do těchto oblastí propaguje aktivita z limbického systému a zejména z pod tenkou vrstvou kortexu uložené hipokampální formace (viz. Kapitola 1.3., obr. 3B.) (Paxinos a Watson, 2007). Tento nález odpovídá nálezům z animálních (Adey et al., 1962; Horibe, 1974) i humánních studií (Monroe a Heath, 1961) s hlubokými elektrodami vnořenými do limbických oblastí, které popisují vysokovoltážní výboje theta indukované halucinogeny (viz kapitola 1.4) a značí „on-line“ stav limbického systému (Buzsáki, 2002). Limbická hyperaktivita v humánních studiích je dávana do souvislosti s převahou tzv. primárního procesu, v průběhu kterého se do vědomí propagují nevědomé obsahy (Carhart-Harris a Friston, 2010; Viktorinová a Tylš, 2016). Nález zvýšené aktivity gama v temporálních oblastech bilaterálně je kortikálním korelátem limbické theta aktivity (tzv. theta-gama coupling) (Buzsáki a Wang, 2012). Zvýšená gama aktivita nad temporálními oblastmi byla pozorována i v naší humánní studii s psilocybinem (viz kapitola 4.4.) (Palenicek, Tylš et al., 2016) a je častým nálezem u psychotických onemocnění (viz kapitola 1.3.).

Psilocin významně narušil EEG konektivitu – vedl k poklesu fronto-temporálních koherencí v pásmu delta a theta a poklesu inter-hemisferálních koherencí v pásmu alfa a beta. Snížení konektivity je častým nálezem u akutní psychózy a je v souladu s diskonekční hypotézou schizofrenie (Friston a Frith, 1995), konkrétně je pak charakteristickým nálezem právě diskonekce fronto-temporálních oblastí, která může být podkladem vzniku např. auditivních halucinací (Ford a Mathalon, 2005). Odpojení evolučně mladších a hierarchicky výše postavených prefrontálních oblastí může vést k desinhibici temporálního laloku a v něm uložených limbických struktur a vynoření nevědomých obsahů (Viktorinová a Tylš, 2016). Pro

nadřazenou kontrolní (inhibiční) funkci prefrontálních laloků svědčí také fakt, že pacienti po frontální lobotomii jsou citlivější k účinkům psychedelických látek (Holden et al., 1970).

Celkově lze snížení EEG koherencí chápat jako diskonekci dlouhých projekcí, které společně se snížením synchronizace lokálních okruhů (snížení EEG absolutního výkonu), může být teoreticky odrazem zvýšené entropie mozku v průběhu psychedelického stavu, tak jak ji popisuje dr. Carhart-Harris (Carhart-Harris et al., 2014). To potvrdila i klastrová analýza dynamiky změn způsobených psilocinem. Psilocin tedy vedl k funkční reorganizaci neuronální sítě do 4 bilaterálně souměrných nezávislých sítí: 1. inter-hemisferální bifrontální-bitemporální oblasti, 2. dvou intra-hemisferálních souměrných sítí s hlavními uzly fronto-centrálně projekující do temporo-parietálních oblastí uložených mediálně a 3. laterálně a 4. intra-hemisferální parieto-temporální sítě. Snížení EEG koherencí indukované psilocinem bylo možné lokalizovat do těchto klastrů (snížení delta a theta v sítích 2, 3, 4 a snížení alfa a beta v síti 1). Funkce těchto sítí v potkaním mozku bude vyžadovat další výzkum.

6.5. Srovnání vlivu serotonergních halucinogenů na QEEG

Všechna serotonergní psychedelika způsobovala podobné změny v QEEG, které je významně odlišovaly od kontrolní skupiny. LSD, mezkalin a DOB, podobně jako psilocin, vedly k poklesu absolutního výkonu a snížení EEG koherencí, změny měly však mírně odlišnou dynamiku v závislosti na farmakokinetických profilech látek (viz kapitola 1.2.2.2.3.). QEEG změny způsobené serotonergními psychedeliky je možné odlišit od disociativních anestetik (ketamin, MK-801), které kromě poklesu absolutního spektrálního výkonu v nižších pásmech vedou k nárůstu výkonu v pásmu gama, na druhou stranu diskonekce je společná pro obě farmakologické skupiny (Tyls et al., 2012).

Psilocin indukoval pokles absolutního výkonu theta-gama především v prvních dvou časových úsecích, poté se částečně normalizoval, přetrvávalo však snížení výkonu v theta / alfa pásmu, což ho odlišovalo od mezkalinu. Mezkalin působil jinak analogické změny, které ale v čase postupně narůstaly až do 80.-90. minuty po podání. LSD také snižovalo absolutní výkon theta – gama, pokles vrcholil v 50.-60. minutě, v 80.-90. minutě došlo k normalizaci výkonu v pásmu theta a alfa, ale k dalšímu snížení výkonu v pásmu gama. Tento pokles výkonu v gama pásmu by mohl odpovídat pozdnímu dopaminergnímu účinku LSD (Marona-Lewicka a Nichols, 2009; Nichols, 2016). Podání DOB vedlo k přechodnému nárůstu theta aktivity s píkem 7-8 Hz ve 20.-30. minutě (čímž se lišilo od ostatních 5HT psychedelik) a celkovému snížení absolutního výkonu ve vyšších frekvenčních pásmech, které trvalo až do 80.-90. minuty.

Pík měl maximum v parietálních oblastech a lze ho proto považovat za základní aktivitu potkana, propagující se z hipokampu (viz kapitola 1.3), kterou je možné objasnit pomocí nízké afinity DOB k 5HT1A receptorům (Vejmola, 2016). Ostatní QEEG změny indukované DOB odpovídají farmakokinetice dlouhodobě působícího halucinogenu.

Serotonergní psychedelika působila téměř výhradně významný pokles koherencí napříč všemi frekvencemi s maximem v pásmu delta. Nejvíce byly sníženy intra-hemisferální koherence lokalizované fronto-temporálně bilaterálně, což odpovídá nálezům u pacientů s psychózou (Ford a Mathalon, 2005; Friston a Frith, 1995). Společně se ukázalo snížení koherencí ve středních frekvencích (alfa, beta) dlouhých inter-hemisferálních, především bitemporálních, ale také frontálních projekcí, někdy zasahujících i do frekvencí vyšších. Na rozdíl od absolutního výkonu, jehož změny odpovídaly farmakokinetice jednotlivých látek, změny v EEG koherencích postupně narůstaly až do 80.-90. minuty. Lze předpokládat, že změny v konektivitě indukované psychedeliky lépe odráží dlouhodobé funkční změny v neuronálních sítích, které přetrvávají jejich farmakologický účinek. Restrukturalizace neuronálních sítí by pak mohla být podkladem terapeutického potenciálu psychedelik. Příkladem může být psilocybin, kde již jednorázové podání vede ke dlouhodobě udržitelným terapeutickým změnám (Tylš, 2015) ve smyslu změny životních postojů (Griffiths et al., 2006), změny osobnostních charakteristik (MacLean et al., 2011) či antidepresivních účinků (Carhart-HarrisBolstridge et al., 2016).

6.6. Normalizace QEEG změn indukovaných psilocinem

Změny ve spektrálním výkonu bylo možné ovlivnit všemi použitými antagonisty i antipsychotiky. 5HT selektivní antagonisté normalizovaly snížený výkon indukovaný psilocinem ve 20.-30. minutě (5HT1A, 5HT2A antagonistá) a 50.-60. minutě (všichni 5HT antagonisté) v nižších frekvenčních pásmech (theta – nižší beta). Pozdní nástup normalizačního účinku 5HT2C antagonisty lze vysvětlit jeho pomalejší farmakokinetikou. Jejich účinek pouze na nižší frekvenční pásma koreluje s nálezem zvýšení absolutního výkonu ve stejných pásmech u skupiny zvířat, kterým byl aplikován samotný 5HT antagonistá. Atypické antipsychotikum klozapin je silně epileptogenní a u pacientů jím léčených způsobuje charakteristické epizodické i lokalizované EEG abnormality v podobě pomalých ostrých vln / aktivit a někdy i epileptiformních elementů (spike-wave komplex) (MacCrimmon et al., 2012). Shodně s těmito klinickými pozorováními klozapin silně zvýšil absolutní výkon v oblasti delta – alfa, částečně i beta (typický nález pro farmakologické ovlivnění záznamu antipsychotiky) (Fink, 2002).

Klozapin v kombinaci s psilocinem měl aditivní efekt: vedl k silnému zvýšení výkonu („hyper-normalizaci“) ve stejných frekvenčních pásmech a normalizaci v oblasti vysoká beta - gama. Typické antipsychotikum haloperidol vykazoval trend k normalizaci psilocinem indukovaného snížení výkonu napříč spektrem, sám o sobě mírně zvyšoval výkon na pomezí alfa / beta. Celkově lze říci, že antipsychotika měla opačný vliv na absolutní výkon než psilocin a normalizovala změny jím indukované lépe než 5HT antagonisté, které tak činily jen v nižším frekvenčním pásmu. Není ovšem jasné, do jaké míry je za tento účinek zodpovědná epileptogenicita antipsychotik (Fink, 2002) a do jaké míry tato normalizace popisuje antipsychotický potenciál v našem modelu.

Naproti tomu změny v EEG konektivitě způsobené psilocinem byly ovlivněny selektivně pouze antagonisty 5HT_{2C}, 5HT_{1A} a částečně 5HT_{2A} receptoru (pouze v pásmu delta). Antipsychotika sama o sobě způsobovala diskonekci a vedla naopak k prohloubení diskonekce indukované psilocinem. Rozpojení konektivních sítí po psilocinu (4 klastry) bylo kompenzováno selektivními 5HT antagonisty. Zatímco 5HT_{1A} a 5HT_{2C} antagonisté nepůsobily silné klastrování sami o sobě, 5HT_{2A} antagonistá indukoval vznik 3 klastrů, velmi podobných jako psilocin (pouze sloučená mediální a laterální intra-hemiferální síť). Agonismus i antagonismus 5HT_{2A} receptoru tak zřejmě vede k ovlivnění podobné sítě, kdy pouze při jejím agonismu dochází k signifikantní diskonekci.

Jelikož je diskonekce charakteristickým nálezem u akutní psychózy (Friston a Frith, 1995) a fronto-temporální diskonekce má dokonce vztah přímo k pozitivním příznakům schizofrenie (Ford a Mathalon, 2005), předpokládáme, že zvýšení konektivity lze pokládat za experimentální marker antipsychotického efektu. Právě psilocinem indukovaná fronto-temporální diskonekce byla významně ovlivněna v pásmu delta (5HT_{2A} a 5HT_{2C} antagonistá) a pásmu theta (5HT_{1A} antagonistá). Tyto selektivní 5HT antagonisté by mohly najít využití při farmakologickém zvládnutí náročných stavů v průběhu intoxikace psilocybinem / halucinogenními houbami a jsou potenciálně zajímavými cíli pro vývoj nových antipsychotik. Jelikož jsou obě námi použítá antipsychotika v současné době standardně používána k léčbě psychotických onemocnění, není pravděpodobné, že by jejich neúčinnost v normalizaci psilocinem indukované diskonekce měla klinickou relevanci. To poukazuje na odlišnost námi použitého modelu akutní psychózy od schizofrenie, kde se nálezy EEG konektivity velmi liší (Brunovský, 2004). Metodicky odlišná QEEG studie hodnotící EEG mikrostavy prokázala v případě haloperidolu účinek opačné polarity než byl nalezen u pacientů se schizofrenií (Yoshimura et al., 2007). Souhrnně lze říci, že potenciální antipsychotický efekt 5HT antagonistů působí pravděpodobně zcela jiným mechanismem než dosud používaná

antipsychotika. Klinicky významný v léčbě schizofrenie se jejich antipsychotický účinek 5HT2A antagonisty však neukázal (Kehne et al., 1996; Talvik-Lotfi et al., 2000).

6.7. Translační validita serotonergního animálního modelu psychózy

Srovnání animálních QEEG dat s psilocinem s daty z humánní studie s psilocybinem odhalilo paralely svědčící pro translační validitu našeho modelu. Nalezli jsme celkové snížení základní aktivity u potkana (s jejím diskretním nárůstem v temporální oblasti). Pokles v základní aktivitě u člověka byl lokalizován pomocí LORETA do zadních středočárových struktur, které jsou součástí sítě DMN (shodně s MEG daty s psilocybinem (Muthukumaraswamy et al., 2013)) a okcipitálního laloku (shodně s MEG daty s LSD (Carhart-HarrisMuthukumaraswamy et al., 2016)). Základní aktivita má synchronizační vliv na ostatní mozkové rytmy a její snížení indukované psychedeliky proto může vést k nárůstu entropie (Carhart-Harris et al., 2014). Předpokládá se, že síť DMN, u které byly zaznamenáno maximum poklesu alfa aktivity (Muthukumaraswamy et al., 2013; Palenicek, Tyls et al., 2016), je funkčně nadřazena limbickým oblastem (Raichle et al., 2001). V těchto oblastech byl zaznamenán naopak nárůst výkonu (theta a gama) v našich animálních datech, a částečně lze aktivaci limbických a paralimbických oblastí přisuzovat i nárůstu gama výkonu s maximem nad temporální kúrou u lidských subjektů.

Naopak rozdíly mezi potkanem a člověkem v našich datech spočívají v nárůstu EEG koherencí ve vysokofrekvenčních oblastech (beta - gama) a v míře zvýšení výkonu u člověka, který byl LORETA metodou lokalizován do rozsáhlých fronto-temporálních oblastí (Palenicek, Tyls et al., 2016). Vysvětlení lze hledat v mezidruhových rozdílech (viz kapitola 1.2.1.), protože aktivita gama často souvisí s vyššími mozkovými funkcemi (např. integrace vědomé zkušenosti), které jsou lokalizovány u člověka v rozsáhlých asociačních kortikálních oblastech a proto velkou měrou přispívají k nárůstu průměrného výkonu. Doposud z našich pilotních humánních dat však nelze vyloučit, že se jedná o svalový artefakt a zdroj této aktivity je tedy zvýšený svalový tonus. Nicméně vzhledem k pozorovanému zvýšení relativního výkonu ve vysokofrekvenčních pásmech po psilocinu u potkana se toto vysvětlení jeví jako nepravděpodobné.

Přestože starší studie s psychedeliky využívající hlubokých elektrod svědčí pro limbickou hyperaktivitu (Adey et al., 1962; Horibe, 1974), zvýšený výkon nad temporálními oblastmi po psilocinu u potkanů bude třeba ověřit nalezením zdrojů mozkové aktivity po psilocybinu u člověka pomocí LORETA či jiných zobrazovacích metod. Na druhou stranu, thetou indukovaná gama aktivita, kterou jsme našli u potkanů temporálně, byla pozorována

ve větším měřítku u lidských subjektů. Předmětem dalšího výzkumu též zůstává otázka, co znamená nález 4 kooperujících neuronálních sítí (koherentních klastrů) indukovaných psilocinem v kontextu poznatků o lidských sítích CEN, DMN a SN.

7. Závěr

Na základě shrnutí poznatků získaných v průběhu řešení mé disertační práce mohu konstatovat, že se nám podařilo prokázat následující:

- 1) Vliv serotonergních psychedelických látek na chování potkanů i na QEEG má specifické charakteristiky, které odlišují 5HT psychedelika od jiných farmakologických skupin.
- 2) Na behaviorální úrovni existují pohlavní rozdíly v účincích psilocinu.
- 3) Na behaviorálním účinku psilocinu i jeho vlivu na QEEG se významně podílí nejen 5HT_{2A}, ale také další serotonergní receptory.
- 4) Psilocin způsobuje celkový pokles průměrného EEG výkonu, ale také lokálně specifické zvýšení absolutního výkonu v pásmu theta a gama nad limbickými oblastmi.
- 5) Psilocin způsobuje celkové snížení EEG konektivity dlouhých projekcí, které lze klastrovat do 4 nezávislých sítí.
- 6) Analogické změny v QEEG indukované psilocinem v animálním modelu byly pozorovány u lidských subjektů pod vlivem psilocybinu.

Naše nálezy jsou v souladu s ranými experimenty hodnotícími vliv psychedelik na EEG na zvířatech i lidských subjektech a zároveň s recentními zobrazovacími studii s psilocybinem a neuropsychoanalytickými teoriemi, snažícími se postihnout účinek psychedelických látek. Naše data potvrzují translační validitu serotonergního modelu akutní psychózy, což nám umožňuje dále studovat detailně roli mozkových sítí v neurobiologii lidského vědomí.

8. Reference

1. Adey, W. R., Bell, F. R., & Dennis, B. J. (1962). Effects of LSD-25, psilocybin, and psilocin on temporal lobe EEG patterns and learned behavior in the cat. *Neurology*, *12*, 591-602.
2. Aghajanian, G. K., & Marek, G. J. (1997). Serotonin induces excitatory postsynaptic potentials in apical dendrites of neocortical pyramidal cells. *Neuropharmacology*, *36*(4-5), 589-599.
3. Anderson, E. W., & Rawnsley, K. (1954). Clinical studies of lysergic acid diethylamide. *Monatsschr Psychiatr Neurol*, *128*(1-2), 38-55.
4. Andreasen, N. C., Flashman, L., Flaum, M., Arndt, S., Swayze, V., 2nd, O'Leary, D. S., Ehrhardt, J. C., & Yuh, W. T. (1994). Regional brain abnormalities in schizophrenia measured with magnetic resonance imaging. *JAMA*, *272*(22), 1763-1769.
5. Andreasen, N. C., Rezai, K., Alliger, R., Swayze, V. W., 2nd, Flaum, M., Kirchner, P., Cohen, G., & O'Leary, D. S. (1992). Hypofrontality in neuroleptic-naive patients and in patients with chronic schizophrenia. Assessment with xenon 133 single-photon emission computed tomography and the Tower of London. *Arch Gen Psychiatry*, *49*(12), 943-958.
6. Andreasson, S., Allebeck, P., Engstrom, A., & Rydberg, U. (1987). Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet*, *2*(8574), 1483-1486.
7. Anticevic, A., Corlett, P. R., Cole, M. W., Savic, A., Gancsos, M., Tang, Y., Repovs, G., Murray, J. D., Driesen, N. R., Morgan, P. T., Xu, K., Wang, F., & Krystal, J. H. (2015). N-methyl-D-aspartate receptor antagonist effects on prefrontal cortical connectivity better model early than chronic schizophrenia. *Biol Psychiatry*, *77*(6), 569-580. doi:10.1016/j.biopsych.2014.07.022
8. Arseneault, L., Cannon, M., Poulton, R., Murray, R., Caspi, A., & Moffitt, T. E. (2002). Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *BMJ*, *325*(7374), 1212-1213.
9. Balíková, M., Hložek, T., Páleníček, T., Tylš, F., Viktorinová, M., Melicher, T., Androvičová, R., Tomíček, P., Roman, M., & Horáček, J. (2014). Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy—implikace pro řízení motorových vozidel. *Soud Lek*, *59*(1), 2-6.
10. Başar, E., & Bullock, T. H. (1992). *Induced rhythms in the brain*: Springer.

11. Berankova, K., Szkutova, M., & Balikova, M. (2007). Distribution profile of 2,5-dimethoxy-4-bromoamphetamine (DOB) in rats after oral and subcutaneous doses. *Forensic Sci Int*, 170(2-3), 94-99. doi:10.1016/j.forsciint.2007.03.023
12. Bhattacharyya, S., Fusar-Poli, P., Borgwardt, S., Martin-Santos, R., Nosarti, C., O'Carroll, C., Allen, P., Seal, M. L., Fletcher, P. C., Crippa, J. A., Giampietro, V., Mechelli, A., Atakan, Z., & McGuire, P. (2009). Modulation of mediotemporal and ventrostriatal function in humans by Delta9-tetrahydrocannabinol: a neural basis for the effects of Cannabis sativa on learning and psychosis. *Arch Gen Psychiatry*, 66(4), 442-451. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2009.17
13. Bhattacharyya, S., Morrison, P. D., Fusar-Poli, P., Martin-Santos, R., Borgwardt, S., Winton-Brown, T., Nosarti, C., CM, O. C., Seal, M., Allen, P., Mehta, M. A., Stone, J. M., Tunstall, N., Giampietro, V., Kapur, S., Murray, R. M., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., Atakan, Z., & McGuire, P. K. (2010). Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology*, 35(3), 764-774. doi:10.1038/npp.2009.184
14. Borgwardt, S. J., Allen, P., Bhattacharyya, S., Fusar-Poli, P., Crippa, J. A., Seal, M. L., Fraccaro, V., Atakan, Z., Martin-Santos, R., O'Carroll, C., Rubia, K., & McGuire, P. K. (2008). Neural basis of Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol: effects during response inhibition. *Biol Psychiatry*, 64(11), 966-973. doi:10.1016/j.biopsych.2008.05.011
15. Bossong, M. G., van Berckel, B. N., Boellaard, R., Zuurman, L., Schuit, R. C., Windhorst, A. D., van Gerven, J. M., Ramsey, N. F., Lammertsma, A. A., & Kahn, R. S. (2009). Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology*, 34(3), 759-766. doi:10.1038/npp.2008.138
16. Bradley, P. B., & Elkes, J. (1957). The effects of some drugs on the electrical activity of the brain. *Brain*, 80(1), 77-117.
17. Braff, D. L., Geyer, M. A., & Swerdlow, N. R. (2001). Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology (Berl)*, 156(2-3), 234-258.
18. Brunovský, M. (2004). Kvantitativní elektroencefalografie v psychiatrii brunovský. *Psychiatrie*, 8(Supl. 3), 6.
19. Bubenikova-Valesova, V., Horacek, J., Vrajova, M., & Hoschl, C. (2008). Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neurosci Biobehav Rev*, 32(5), 1014-1023. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.03.012

20. Bubenikova, V., Horacek, J., Kozeny, J., Platilova, V., Zavesicka, L., Palenicek, T., & Hoschl, C. (2004). The effect of tryptophan depletion on the action of haloperidol in MK-801-treated rats. *Eur J Pharmacol*, *502*(1-2), 109-116. doi:10.1016/j.ejphar.2004.08.034
21. Buchsbaum, M. S., Haier, R. J., Potkin, S. G., Nuechterlein, K., Bracha, H. S., Katz, M., Lohr, J., Wu, J., Lottenberg, S., Jerabek, P. A., & et al. (1992). Frontostriatal disorder of cerebral metabolism in never-medicated schizophrenics. *Arch Gen Psychiatry*, *49*(12), 935-942.
22. Buzsaki, G. (1996). The hippocampo-neocortical dialogue. *Cereb Cortex*, *6*(2), 81-92.
23. Buzsaki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, *33*(3), 325-340.
24. Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of Gamma Oscillations. *Annual review of neuroscience*, *35*(1), 203-225. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150444
25. Canu, E., Agosta, F., & Filippi, M. (2015). A selective review of structural connectivity abnormalities of schizophrenic patients at different stages of the disease. *Schizophr Res*, *161*(1), 19-28. doi:10.1016/j.schres.2014.05.020
26. Carhart-Harris, R. L., Bolstridge, M., Rucker, J., Day, C. M., Erritzoe, D., Kaelen, M., Bloomfield, M., Rickard, J. A., Forbes, B., Feilding, A., Taylor, D., Pilling, S., Curran, V. H., & Nutt, D. J. (2016). Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *Lancet Psychiatry*, *3*(7), 619-627. doi:10.1016/S2215-0366(16)30065-7
27. Carhart-Harris, R. L., Erritzoe, D., Williams, T., Stone, J. M., Reed, L. J., Colasanti, A., Tyacke, R. J., Leech, R., Malizia, A. L., Murphy, K., Hobden, P., Evans, J., Feilding, A., Wise, R. G., & Nutt, D. J. (2012). Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *109*(6), 2138-2143. doi:10.1073/pnas.1119598109
28. Carhart-Harris, R. L., & Friston, K. J. (2010). The default-mode, ego-functions and free-energy: a neurobiological account of Freudian ideas. *Brain*, *133*(Pt 4), 1265-1283. doi:10.1093/brain/awq010
29. Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Erritzoe, D., Williams, T. M., Stone, J. M., Evans, J., Sharp, D. J., Feilding, A., Wise, R. G., & Nutt, D. J. (2013). Functional connectivity measures after psilocybin inform a novel hypothesis of early psychosis. *Schizophr Bull*, *39*(6), 1343-1351. doi:10.1093/schbul/sbs117
30. Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Hellyer, P. J., Shanahan, M., Feilding, A., Tagliazucchi, E., Chialvo, D. R., & Nutt, D. (2014). The entropic brain: a theory of conscious states

- informed by neuroimaging research with psychedelic drugs. *Front Hum Neurosci*, 8, 20. doi:10.3389/fnhum.2014.00020
31. Carhart-Harris, R. L., Muthukumaraswamy, S., Roseman, L., Kaelen, M., Droog, W., Murphy, K., Tagliazucchi, E., Schenberg, E. E., Nest, T., Orban, C., Leech, R., Williams, L. T., Williams, T. M., Bolstridge, M., Sessa, B., McGonigle, J., Sereno, M. I., Nichols, D., Hellyer, P. J., Hobden, P., Evans, J., Singh, K. D., Wise, R. G., Curran, H. V., Feilding, A., & Nutt, D. J. (2016). Neural correlates of the LSD experience revealed by multimodal neuroimaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113(17), 4853-4858. doi:10.1073/pnas.1518377113
 32. Carlsson, A. (1995). Neurocircuitries and neurotransmitter interactions in schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol*, 10 Suppl 3, 21-28.
 33. Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M., & Carlsson, M. L. (2001). Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 41, 237-260. doi:10.1146/annurev.pharmtox.41.1.237
 34. Celada, P., Puig, M. V., Diaz-Mataix, L., & Artigas, F. (2008). The hallucinogen DOI reduces low-frequency oscillations in rat prefrontal cortex: reversal by antipsychotic drugs. *Biol Psychiatry*, 64(5), 392-400. doi:10.1016/j.biopsych.2008.03.013
 35. Cooley, J., & Tukey, J. (1965). An algorithm for machine calculation of complex Fourier series. Mathematics of computing, reprinted 1972. *Digital signal processing. IEEE Press, New York, NY*, 223-227.
 36. D'Souza, D. C., Abi-Saab, W. M., Madonick, S., Forselius-Bielen, K., Doersch, A., Braley, G., Gueorguieva, R., Cooper, T. B., & Krystal, J. H. (2005). Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol Psychiatry*, 57(6), 594-608. doi:10.1016/j.biopsych.2004.12.006
 37. D'Souza, D. C., Perry, E., MacDougall, L., Ammerman, Y., Cooper, T., Wu, Y. T., Braley, G., Gueorguieva, R., & Krystal, J. H. (2004). The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 29(8), 1558-1572. doi:10.1038/sj.npp.1300496
 38. Dandash, O., Harrison, B. J., Adapa, R., Gaillard, R., Giorlando, F., Wood, S. J., Fletcher, P. C., & Fornito, A. (2015). Selective augmentation of striatal functional connectivity following NMDA receptor antagonism: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 40(3), 622-631. doi:10.1038/npp.2014.210

39. Dawson, N., Morris, B. J., & Pratt, J. A. (2013). Subanaesthetic ketamine treatment alters prefrontal cortex connectivity with thalamus and ascending subcortical systems. *Schizophr Bull*, *39*(2), 366-377. doi:10.1093/schbul/sbr144
40. Dean, B., Sundram, S., Bradbury, R., Scarr, E., & Copolov, D. (2001). Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*, *103*(1), 9-15.
41. Delille, H. K., Mezler, M., & Marek, G. J. (2013). The two faces of the pharmacological interaction of mGlu2 and 5-HT(2)A - relevance of receptor heterocomplexes and interaction through functional brain pathways. *Neuropharmacology*, *70*, 296-305. doi:10.1016/j.neuropharm.2013.02.005
42. Di, X., Chan, R. C., & Gong, Q. Y. (2009). White matter reduction in patients with schizophrenia as revealed by voxel-based morphometry: an activation likelihood estimation meta-analysis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *33*(8), 1390-1394. doi:10.1016/j.pnpbp.2009.08.020
43. Dittrich, A. (1998). The standardized psychometric assessment of altered states of consciousness (ASCs) in humans. *Pharmacopsychiatry*, *31 Suppl 2*, 80-84. doi:10.1055/s-2007-979351
44. Don, N. S., McDonough, B. E., Moura, G., Warren, C. A., Kawanishi, K., Tomita, H., Tachibana, Y., Bohlke, M., & Farnsworth, N. R. (1998). Effects of Ayahuasca on the human EEG. *Phytomedicine*, *5*(2), 87-96. doi:10.1016/S0944-7113(98)80003-2
45. Driesen, N. R., McCarthy, G., Bhagwagar, Z., Bloch, M. H., Calhoun, V. D., D'Souza, D. C., Gueorguieva, R., He, G., Leung, H. C., Ramani, R., Anticevic, A., Suckow, R. F., Morgan, P. T., & Krystal, J. H. (2013). The impact of NMDA receptor blockade on human working memory-related prefrontal function and connectivity. *Neuropsychopharmacology*, *38*(13), 2613-2622. doi:10.1038/npp.2013.170
46. Eilam, D., & Golani, I. (1989). Home base behavior of rats (*Rattus norvegicus*) exploring a novel environment. *Behav Brain Res*, *34*(3), 199-211.
47. Elul, R. (1971). The genesis of the EEG. *Int Rev Neurobiol*, *15*, 227-272.
48. Fantegrossi, W. E., Woods, J. H., & Winger, G. (2004). Transient reinforcing effects of phenylisopropylamine and indolealkylamine hallucinogens in rhesus monkeys. *Behav Pharmacol*, *15*(2), 149-157.
49. Feinberg, I. (1990). Cortical pruning and the development of schizophrenia.

50. Ferdinand, R. F., Sondeijker, F., van der Ende, J., Selten, J. P., Huizink, A., & Verhulst, F. C. (2005). Cannabis use predicts future psychotic symptoms, and vice versa. *Addiction, 100*(5), 612-618. doi:10.1111/j.1360-0443.2005.01070.x
51. Fink, M. (1969). EEG and human psychopharmacology. *Annu Rev Pharmacol, 9*, 241-258. doi:10.1146/annurev.pa.09.040169.001325
52. Fink, M. (2002). EEG changes with antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry, 159*(8), 1439; discussion 1439. doi:10.1176/appi.ajp.159.8.1439
53. Ford, J. M., & Mithal, D. H. (2005). Corollary discharge dysfunction in schizophrenia: can it explain auditory hallucinations? *Int J Psychophysiol, 58*(2-3), 179-189. doi:10.1016/j.ijpsycho.2005.01.014
54. Forrest, A. D., Coto, C. A., & Siegel, S. J. (2014). Animal Models of Psychosis: Current State and Future Directions. *Curr Behav Neurosci Rep, 1*(2), 100-116. doi:10.1007/s40473-014-0013-2
55. Fowler, C. J., Holt, S., Nilsson, O., Jonsson, K. O., Tiger, G., & Jacobsson, S. O. (2005). The endocannabinoid signaling system: pharmacological and therapeutic aspects. *Pharmacol Biochem Behav, 81*(2), 248-262. doi:10.1016/j.pbb.2005.01.023
56. Freeman, W. J. (1994). Characterization of state transitions in spatially distributed, chaotic, nonlinear, dynamical systems in cerebral cortex. *Integr Physiol Behav Sci, 29*(3), 294-306.
57. Friston, K. J. (1999). Schizophrenia and the disconnection hypothesis. *Acta Psychiatr Scand Suppl, 395*, 68-79.
58. Friston, K. J., & Frith, C. D. (1995). Schizophrenia: a disconnection syndrome? *Clin Neurosci, 3*(2), 89-97.
59. Fujakova, M., Palenicek, T., Brunovsky, M., Gorman, I., Tyls, F., Kubsova, A., Ripova, D., Krajca, V., & Horacek, J. (2014). The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. *Pharmacol Biochem Behav, 122*, 212-221. doi:10.1016/j.pbb.2014.03.001
60. Fusar-Poli, P., Crippa, J. A., Bhattacharyya, S., Borgwardt, S. J., Allen, P., Martin-Santos, R., Seal, M., Surguladze, S. A., O'Carroll, C., Atakan, Z., Zuardi, A. W., & McGuire, P. K. (2009). Distinct effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing. *Arch Gen Psychiatry, 66*(1), 95-105. doi:10.1001/archgenpsychiatry.2008.519

61. Gastaut, H., Ferrer, S., Castells, C., Lesevre, N., & Luschnat, K. (1953). [Effect of the d-lysergic acid diethylamide on the psychic functions and on electroencephalogram]. *Confin Neurol*, *13*(2), 102-120.
62. Glennon, R. A., Titeler, M., & McKenney, J. D. (1984). Evidence for 5-HT₂ involvement in the mechanism of action of hallucinogenic agents. *Life Sci*, *35*(25), 2505-2511.
63. Golani, I., Benjamini, Y., & Eilam, D. (1993). Stopping behavior: constraints on exploration in rats (*Rattus norvegicus*). *Behav Brain Res*, *53*(1-2), 21-33.
64. Goldman-Rakic, P. S., & Selemon, L. D. (1997). Functional and anatomical aspects of prefrontal pathology in schizophrenia. *Schizophr Bull*, *23*(3), 437-458.
65. Goldstein, L., Murphree, H. B., Sugerman, A. A., Pfeiffer, C. C., & Jenney, E. H. (1963). Quantitative electroencephalographic analysis of naturally occurring (schizophrenic) and drug-induced psychotic states in human males. *Clin Pharmacol Ther*, *4*, 10-21.
66. Gonzalez-Maeso, J., Ang, R. L., Yuen, T., Chan, P., Weisstaub, N. V., Lopez-Gimenez, J. F., Zhou, M., Okawa, Y., Callado, L. F., Milligan, G., Gingrich, J. A., Filizola, M., Meana, J. J., & Sealfon, S. C. (2008). Identification of a serotonin/glutamate receptor complex implicated in psychosis. *Nature*, *452*(7183), 93-97. doi:10.1038/nature06612
67. Gorriti, M. A., Ferrer, B., del Arco, I., Bermudez-Silva, F. J., de Diego, Y., Fernandez-Espejo, E., Navarro, M., & Rodriguez de Fonseca, F. (2005). Acute delta9-tetrahydrocannabinol exposure facilitates quinpirole-induced hyperlocomotion. *Pharmacol Biochem Behav*, *81*(1), 71-77. doi:10.1016/j.pbb.2005.02.004
68. Gouzoulis-Mayfrank, E., Schreckenberger, M., Sabri, O., Arning, C., Thelen, B., Spitzer, M., Kovar, K. A., Hermle, L., Bull, U., & Sass, H. (1999). Neurometabolic effects of psilocybin, 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE) and d-methamphetamine in healthy volunteers. A double-blind, placebo-controlled PET study with [18F]FDG. *Neuropsychopharmacology*, *20*(6), 565-581. doi:10.1016/S0893-133X(98)00089-X
69. Griffiths, R. R., Richards, W. A., McCann, U., & Jesse, R. (2006). Psilocybin can occasion mystical-type experiences having substantial and sustained personal meaning and spiritual significance. *Psychopharmacology (Berl)*, *187*(3), 268-283; discussion 284-292. doi:10.1007/s00213-006-0457-5
70. Halberstadt, A. L., & Geyer, M. A. (2010). LSD but not lisuride disrupts prepulse inhibition in rats by activating the 5-HT(2A) receptor. *Psychopharmacology (Berl)*, *208*(2), 179-189. doi:10.1007/s00213-009-1718-x

71. Halberstadt, A. L., Koedood, L., Powell, S. B., & Geyer, M. A. (2011). Differential contributions of serotonin receptors to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens in mice. *J Psychopharmacol*, 25(11), 1548-1561. doi:10.1177/0269881110388326
72. Hausner, M., Segalová, E. (2016). *LSD: výzkum a klinická praxe za železnou oponou*: Triton.
73. Henquet, C., Krabbendam, L., Spauwen, J., Kaplan, C., Lieb, R., Wittchen, H. U., & van Os, J. (2005). Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *BMJ*, 330(7481), 11. doi:10.1136/bmj.38267.664086.63
74. Hofmann, A., & Ott, J. (1980). *LSD, my problem child* (Vol. 5): McGraw-Hill New York.
75. Hoch, P. H., Cattell, J. P., & Pennes, H. H. (1952). Effects of mescaline and lysergic acid (d-LSD-25). *Am J Psychiatry*, 108(8), 579-584. doi:10.1176/ajp.108.8.579
76. Holden, J. M., Itil, T. M., & Hofstatter, L. (1970). Prefrontal lobotomy: stepping-stone or pitfall? *Am J Psychiatry*, 127(5), 591-598. doi:10.1176/ajp.127.5.591
77. Hollister, L. E., & Sjoberg, B. M. (1964). Clinical Syndromes and Biochemical Alterations Following Mescaline, Lysergic Acid Diethylamide, Psilocybin and a Combination of the Three Psychotomimetic Drugs. *Compr Psychiatry*, 5, 170-178.
78. Horacek, J., Bubenikova-Valesova, V., Kopecek, M., Palenicek, T., Dockery, C., Mohr, P., & Hoschl, C. (2006). Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs*, 20(5), 389-409.
79. Horacek, J., Dockery, C., Kopecek, M., Spaniel, F., Novak, T., Tislerova, B., Klirova, M., Palenicek, T., & Hoschl, C. (2006). Regional brain metabolism as the predictor of performance on the Trail Making Test in schizophrenia. A 18FDG PET covariation study. *Neuro Endocrinol Lett*, 27(5), 587-594.
80. Horibe, M. (1974). The effects of psilocybin on EEG and behaviour in monkeys. *Act Nerv Super (Praha)*, 16(1), 40-42.
81. Horovitz, Z. P. (1965). Psychoactive drugs and limbic system of the brain. *Psychosomatics*, 6(5), 281-286.
82. Horovitz, Z. P., Mulroy, M. I., Waldron, T., & Leaf, R. (1965). Behavioral and Electroencephalographic Effects of Lsd. *J Pharm Sci*, 54, 108-110.
83. Höschl, C., Libiger, J., & Švestka, J. (2004). *Psychiatrie* (2. doplněné a opravené vydání). *Praha: Tigris*.

84. Hughes, J. R., & John, E. R. (1999). Conventional and quantitative electroencephalography in psychiatry. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, *11*(2), 190-208. doi:10.1176/jnp.11.2.190
85. Huot, P., Johnston, T. H., Darr, T., Hazrati, L. N., Visanji, N. P., Pires, D., Brotchie, J. M., & Fox, S. H. (2010). Increased 5-HT_{2A} receptors in the temporal cortex of parkinsonian patients with visual hallucinations. *Mov Disord*, *25*(10), 1399-1408. doi:10.1002/mds.23083
86. Cheer, J. F., Wassum, K. M., Heien, M. L., Phillips, P. E., & Wightman, R. M. (2004). Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci*, *24*(18), 4393-4400. doi:10.1523/JNEUROSCI.0529-04.2004
87. Chweitzer, A., Geblewicz, E., & Liberson, W. (1936). V. Étude de l'électrencéphalogramme humain dans un cas d'intoxication mescalinique. *L'année psychologique*, *37*(1), 94-119.
88. Jatoi, M. A., Kamel, N., Malik, A. S., Faye, I., & Begum, T. (2014). A survey of methods used for source localization using EEG signals. *Biomedical Signal Processing and Control*, *11*, 42-52.
89. Jentsch, J. D., & Roth, R. H. (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, *20*(3), 201-225. doi:10.1016/S0893-133X(98)00060-8
90. Johansson, C., Jackson, D. M., Zhang, J., & Svensson, L. (1995). Prepulse inhibition of acoustic startle, a measure of sensorimotor gating: effects of antipsychotics and other agents in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, *52*(4), 649-654.
91. Jones, C. A., Watson, D. J., & Fone, K. C. (2011). Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol*, *164*(4), 1162-1194. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x
92. Kanayama, N., Sato, A., & Ohira, H. (2007). Crossmodal effect with rubber hand illusion and gamma-band activity. *Psychophysiology*, *44*(3), 392-402. doi:10.1111/j.1469-8986.2007.00511.x
93. Kaplan, R. D., Szechtman, H., Franco, S., Szechtman, B., Nahmias, C., Garnett, E. S., List, S., & Cleghorn, J. M. (1993). Three clinical syndromes of schizophrenia in untreated subjects: relation to brain glucose activity measured by positron emission tomography (PET). *Schizophr Res*, *11*(1), 47-54.
94. Kehne, J. H., Baron, B. M., Carr, A. A., Chaney, S. F., Elands, J., Feldman, D. J., Frank, R. A., van Giersbergen, P. L., McCloskey, T. C., Johnson, M. P., McCarty, D. R., Poirot, M., Senyah, Y., Siegel, B. W., & Widmaier, C. (1996). Preclinical characterization of

- the potential of the putative atypical antipsychotic MDL 100,907 as a potent 5-HT_{2A} antagonist with a favorable CNS safety profile. *J Pharmacol Exp Ther*, 277(2), 968-981.
95. Keshavan, M. S., Anderson, S., & Pettegrew, J. W. (1994). Is schizophrenia due to excessive synaptic pruning in the prefrontal cortex? The Feinberg hypothesis revisited. *Journal of psychiatric research*, 28(3), 239-265.
96. Khalili-Mahani, N., Niesters, M., van Osch, M. J., Oitzl, M., Veer, I., de Rooij, M., van Gerven, J., van Buchem, M. A., Beckmann, C. F., Rombouts, S. A., & Dahan, A. (2015). Ketamine interactions with biomarkers of stress: a randomized placebo-controlled repeated measures resting-state fMRI and PCASL pilot study in healthy men. *Neuroimage*, 108, 396-409. doi:10.1016/j.neuroimage.2014.12.050
97. Kometer, M., Schmidt, A., Jancke, L., & Vollenweider, F. X. (2013). Activation of serotonin 2A receptors underlies the psilocybin-induced effects on alpha oscillations, N170 visual-evoked potentials, and visual hallucinations. *J Neurosci*, 33(25), 10544-10551. doi:10.1523/JNEUROSCI.3007-12.2013
98. Kopeček, M., Horáček, J. (2002). Schizofrenie v obraze funkčních zobrazovacích metod. Metabolické a perfuzní studie. 6, 6.
99. Krebs-Thomson, K., Ruiz, E. M., Masten, V., Buell, M., & Geyer, M. A. (2006). The roles of 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors in the effects of 5-MeO-DMT on locomotor activity and prepulse inhibition in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 189(3), 319-329. doi:10.1007/s00213-006-0566-1
100. Krystal, J. H., D'Souza, D. C., Mathalon, D., Perry, E., Belger, A., & Hoffman, R. (2003). NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)*, 169(3-4), 215-233. doi:10.1007/s00213-003-1582-z
101. Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., Heninger, G. R., Bowers, M. B., Jr., & Charney, D. S. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry*, 51(3), 199-214.
102. Lamarque, S., Taghzouti, K., & Simon, H. (2001). Chronic treatment with Delta(9)-tetrahydrocannabinol enhances the locomotor response to amphetamine and heroin. Implications for vulnerability to drug addiction. *Neuropharmacology*, 41(1), 118-129.
103. Lat, J. (1973). The analysis of habituation. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 33(4), 771-789.

104. Lee, K.-H., Williams, L. M., Breakspear, M., & Gordon, E. (2002). Synchronous Gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, *41*(1). doi:10.1016/s0165-0173(02)00220-5
105. Leweke, F. M., Piomelli, D., Pahlisch, F., Muhl, D., Gerth, C. W., Hoyer, C., Klosterkötter, J., Hellmich, M., & Koethe, D. (2012). Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry*, *2*, e94. doi:10.1038/tp.2012.15
106. Lieberman, J. A., Bymaster, F. P., Meltzer, H. Y., Deutch, A. Y., Duncan, G. E., Marx, C. E., Aprille, J. R., Dwyer, D. S., Li, X. M., Mahadik, S. P., Duman, R. S., Porter, J. H., Modica-Napolitano, J. S., Newton, S. S., & Csernansky, J. G. (2008). Antipsychotic drugs: comparison in animal models of efficacy, neurotransmitter regulation, and neuroprotection. *Pharmacol Rev*, *60*(3), 358-403. doi:10.1124/pr.107.00107
107. Lisman, J., & Buzsáki, G. (2008). A neural coding scheme formed by the combined function of gamma and theta oscillations. *Schizophr Bull*, *34*(5), 974-980. doi:10.1093/schbul/sbn060
108. Lu, H., Zou, Q., Gu, H., Raichle, M. E., Stein, E. A., & Yang, Y. (2012). Rat brains also have a default mode network. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *109*(10), 3979-3984. doi:10.1073/pnas.1200506109
109. Luzzi, S., Morrison, P. D., Powell, J., di Forti, M., & Murray, R. M. (2008). What is the mechanism whereby cannabis use increases risk of psychosis? *Neurotox Res*, *14*(2-3), 105-112. doi:10.1007/BF03033802
110. Maccrimmon, D., Brunet, D., Criollo, M., Galin, H., & Lawson, J. S. (2012). Clozapine augments delta, theta, and right frontal EEG alpha power in schizophrenic patients. *ISRN Psychiatry*, *2012*, 596486. doi:10.5402/2012/596486
111. MacLean, K. A., Johnson, M. W., & Griffiths, R. R. (2011). Mystical experiences occasioned by the hallucinogen psilocybin lead to increases in the personality domain of openness. *J Psychopharmacol*, *25*(11), 1453-1461. doi:10.1177/0269881111420188
112. Marek, G. J., Wright, R. A., Schoepp, D. D., Monn, J. A., & Aghajanian, G. K. (2000). Physiological antagonism between 5-hydroxytryptamine(2A) and group II metabotropic glutamate receptors in prefrontal cortex. *J Pharmacol Exp Ther*, *292*(1), 76-87.
113. Marona-Lewicka, D., Nichols, C. D., & Nichols, D. E. (2011). An animal model of schizophrenia based on chronic LSD administration: old idea, new results. *Neuropharmacology*, *61*(3), 503-512. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.02.006

114. Marona-Lewicka, D., & Nichols, D. E. (2009). WAY 100635 produces discriminative stimulus effects in rats mediated by dopamine D(4) receptor activation. *Behav Pharmacol*, *20*(1), 114-118. doi:10.1097/FBP.0b013e3283242f1a
115. Martin, D. A., Marona-Lewicka, D., Nichols, D. E., & Nichols, C. D. (2014). Chronic LSD alters gene expression profiles in the mPFC relevant to schizophrenia. *Neuropharmacology*, *83*, 1-8. doi:10.1016/j.neuropharm.2014.03.013
116. McNally, J. M., McCarley, R. W., McKenna, J. T., Yanagawa, Y., & Brown, R. E. (2011). Complex receptor mediation of acute ketamine application on in vitro gamma oscillations in mouse prefrontal cortex: modeling gamma band oscillation abnormalities in schizophrenia. *Neuroscience*, *199*, 51-63. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.10.015
117. Meldrum, B. S., & Naquet, R. (1971). Effects of psilocybin, dimethyltryptamine, mescaline and various lysergic acid derivatives on the EEG and on photically induced epilepsy in the baboon (*Papio papio*). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, *31*(6), 563-572.
118. Menon, V. (2011). Large-scale brain networks and psychopathology: a unifying triple network model. *Trends Cogn Sci*, *15*(10), 483-506. doi:10.1016/j.tics.2011.08.003
119. Minuzzi, L., Nomikos, G. G., Wade, M. R., Jensen, S. B., Olsen, A. K., & Cumming, P. (2005). Interaction between LSD and dopamine D2/3 binding sites in pig brain. *Synapse*, *56*(4), 198-204. doi:10.1002/syn.20141
120. Monroe, R. R., & Heath, R. G. (1961). Effects of lysergic acid and various derivatives on depth and cortical electrograms. *J Neuropsychiatr*, *3*, 75-82.
121. Muthukumaraswamy, S. D., Carhart-Harris, R. L., Moran, R. J., Brookes, M. J., Williams, T. M., Errizoe, D., Sessa, B., Papadopoulos, A., Bolstridge, M., Singh, K. D., Feilding, A., Friston, K. J., & Nutt, D. J. (2013). Broadband cortical desynchronization underlies the human psychedelic state. *J Neurosci*, *33*(38), 15171-15183. doi:10.1523/JNEUROSCI.2063-13.2013
122. Nakahara, Y., Kikura, R., Takahashi, K., Foltz, R. L., & Mieczkowski, T. (1996). Detection of LSD and metabolite in rat hair and human hair. *J Anal Toxicol*, *20*(5), 323-329.
123. Nekovarova, T., Fajnerova, I., Horacek, J., & Spaniel, F. (2014). Bridging disparate symptoms of schizophrenia: a triple network dysfunction theory. *Front Behav Neurosci*, *8*, 171. doi:10.3389/fnbeh.2014.00171

124. Nevole, S. (1947). *O Čtyřrozměrném Vidění: Studie z Fysiopathologie Smyslu Prostorového, se Zvláštním Zřetelem k Experimentální Otravě Mezkalinem* Lékařské Knihkupectví a Nakladatelství.
125. Newell, K. A., Deng, C., & Huang, X. F. (2006). Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp Brain Res*, 172(4), 556-560. doi:10.1007/s00221-006-0503-x
126. Nichols, D. E. (2016). Psychedelics. *Pharmacol Rev*, 68(2), 264-355. doi:10.1124/pr.115.011478
127. Nováková, P., Tylš F., Kubešová, A., Kadeřábek, L., Fujáková, M., Páleníček, T. (2014). Role kanabinoidů a kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. *Psychiatrie*, 18(4), 6.
128. O'Connor, K. P., & Shaw, J. C. (1978). Field dependence, laterality and the EEG. *Biol Psychol*, 6(2), 93-109.
129. Ouagazzal, A., Grottick, A. J., Moreau, J., & Higgins, G. A. (2001). Effect of LSD on prepulse inhibition and spontaneous behavior in the rat. A pharmacological analysis and comparison between two rat strains. *Neuropsychopharmacology*, 25(4), 565-575. doi:10.1016/S0893-133X(01)00282-2
130. Padich, R. A., McCloskey, T. C., & Kehne, J. H. (1996). 5-HT modulation of auditory and visual sensorimotor gating: II. Effects of the 5-HT_{2A} antagonist MDL 100,907 on disruption of sound and light prepulse inhibition produced by 5-HT agonists in Wistar rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 124(1-2), 107-116.
131. Palenicek, T., Balikova, M., Bubenikova-Valesova, V., & Horacek, J. (2008). Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. *Psychopharmacology (Berl)*, 196(1), 51-62. doi:10.1007/s00213-007-0926-5
132. Palenicek, T., Fujakova, M., Brunovsky, M., Balikova, M., Horacek, J., Gorman, I., Tyls, F., Tislerova, B., Sos, P., Bubenikova-Valesova, V., Hoschl, C., & Krajca, V. (2011). Electroencephalographic spectral and coherence analysis of ketamine in rats: correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. *Neuropsychobiology*, 63(4), 202-218. doi:10.1159/000321803
133. Palenicek, T., Fujakova, M., Brunovsky, M., Horacek, J., Gorman, I., Balikova, M., Rambousek, L., Syslova, K., Kacer, P., Zach, P., Bubenikova-Valesova, V., Tyls, F., Kubesova, A., Puskarcikova, J., & Hoschl, C. (2013). Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine

- (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 225(1), 75-93. doi:10.1007/s00213-012-2797-7
134. Palenicek, T., Fujakova, M., Tyls, F., Kubesova, A., Brunovsky, M., & Horacek, J. (2011). Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací – animální model psychózy. *15(Supplementum 2)*, 5.
135. Palenicek, T., Hlinak, Z., Bubenikova-Valesova, V., Novak, T., & Horacek, J. (2010). Sex differences in the effects of N,N-diethyllysergamide (LSD) on behavioural activity and prepulse inhibition. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 34(4), 588-596. doi:10.1016/j.pnpbp.2010.02.008
136. Palenicek, T., Lhotkova, E., Zidkova, M., Balikova, M., Kuchar, M., Himl, M., Miksatkova, P., Cegan, M., Vales, K., Tyls, F., & Horsley, R. R. (2016). Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 69, 49-59. doi:10.1016/j.pnpbp.2016.04.004
137. Palenicek, T., Tyls, F., Viktorinova, M., Androvicova, R., Brunovsky, M., & Horacek, J. (2016). *Psilocybin effects on brain connectivity – human EEG study*. Paper presented at the International Conference on Psychedelic Research, Amsterdam.
138. Pascual-Marqui, R. D., Michel, C. M., & Lehmann, D. (1994). Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol*, 18(1), 49-65.
139. Paxinos, G. (2014). *The rat nervous system*: Academic press.
140. Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *THE RAT BRAIN in stereotaxic coordinates* (6th ed.): Elsevier Inc.
141. Pettersson-Yeo, W., Allen, P., Benetti, S., McGuire, P., & Mechelli, A. (2011). Dysconnectivity in schizophrenia: where are we now? *Neurosci Biobehav Rev*, 35(5), 1110-1124. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.11.004
142. Quednow, B. B., Komater, M., Geyer, M. A., & Vollenweider, F. X. (2012). Psilocybin-induced deficits in automatic and controlled inhibition are attenuated by ketanserin in healthy human volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 37(3), 630-640. doi:10.1038/npp.2011.228
143. Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(2), 676-682. doi:10.1073/pnas.98.2.676

144. Rambousek, L., Palenicek, T., Vales, K., & Stuchlik, A. (2014). The effect of psilocin on memory acquisition, retrieval, and consolidation in the rat. *Front Behav Neurosci*, 8, 180. doi:10.3389/fnbeh.2014.00180
145. Ray, T. S. (2010). Psychedelics and the human receptorome. *PLoS One*, 5(2), e9019. doi:10.1371/journal.pone.0009019
146. Riba, J., Anderer, P., Morte, A., Urbano, G., Jane, F., Saletu, B., & Barbanoj, M. J. (2002). Topographic pharmaco-EEG mapping of the effects of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*, 53(6), 613-628.
147. Rinkel, M., De, S. H., Hyde, R. W., & Solomon, H. C. (1952). Experimental schizophrenia-like symptoms. *Am J Psychiatry*, 108(8), 572-578. doi:10.1176/ajp.108.8.572
148. Roubicek, J., & Srnec, J. (1955). [Experimental psychosis caused by LSD]. *Cas Lek Cesk*, 94(8), 189-195.
149. Saito, K., Toyo'oka, T., Fukushima, T., Kato, M., Shirota, O., & Goda, Y. (2004). Determination of psilocin in magic mushrooms and rat plasma by liquid chromatography with fluorimetry and electrospray ionization mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 527(2), 149-156.
150. Scruggs, J. L., Schmidt, D., & Deutch, A. Y. (2003). The hallucinogen 1-[2,5-dimethoxy-4-iodophenyl]-2-aminopropane (DOI) increases cortical extracellular glutamate levels in rats. *Neurosci Lett*, 346(3), 137-140.
151. Sedvall, G., & Farde, L. (1995). Chemical brain anatomy in schizophrenia. *Lancet*, 346(8977), 743-749.
152. Seeman, P. (1987). Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse*, 1(2), 133-152. doi:10.1002/syn.890010203
153. Shagass, C. (1966). Effects of LSD on somatosensory and visual evoked responses and on the EEG in man. *Recent Adv Biol Psychiatry*, 9, 209-227.
154. Sierakowiak, A., Monnot, C., Aski, S. N., Uppman, M., Li, T. Q., Damberg, P., & Brene, S. (2015). Default mode network, motor network, dorsal and ventral basal ganglia networks in the rat brain: comparison to human networks using resting state-fMRI. *PLoS One*, 10(3), e0120345. doi:10.1371/journal.pone.0120345
155. Sills, T. L., Onalaja, A. O., & Crawley, J. N. (1998). Mesolimbic dopaminergic mechanisms underlying individual differences in sugar consumption and amphetamine hyperlocomotion in Wistar rats. *Eur J Neurosci*, 10(5), 1895-1902.

156. Sipes, T. A., & Geyer, M. A. (1994). Multiple serotonin receptor subtypes modulate prepulse inhibition of the startle response in rats. *Neuropharmacology*, 33(3-4), 441-448.
157. Sipes, T. E., & Geyer, M. A. (1995). DOI disruption of prepulse inhibition of startle in the rat is mediated by 5-HT(2A) and not by 5-HT(2C) receptors. *Behav Pharmacol*, 6(8), 839-842.
158. Speck, L. B. (1958). Electroencephalographic changes in the rat with mescaline intoxication. *J Pharmacol Exp Ther*, 122(2), 201-206.
159. Svizenska, I., Dubovy, P., & Sulcova, A. (2008). Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. *Pharmacol Biochem Behav*, 90(4), 501-511. doi:10.1016/j.pbb.2008.05.010
160. Swerdlow, N. R., & Geyer, M. A. (1998). Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull*, 24(2), 285-301.
161. Talvik-Lotfi, M., Nyberg, S., Nordstrom, A. L., Ito, H., Halldin, C., Brunner, F., & Farde, L. (2000). High 5HT2A receptor occupancy in M100907-treated schizophrenic patients. *Psychopharmacology (Berl)*, 148(4), 400-403.
162. Tyls, F., Palenicek, T., Fujakova, M., Kubesova, A., Brunovsky, M., Krajca, V., & Horacek, J. (2012). *A comparison of electroencephalographic activity in serotonergic and glutamatergic models of psychosis*. Paper presented at the 28th CINP Congress, Stockholm, Sweden.
163. Tyls, F., Palenicek, T., & Horacek, J. (2014). Psilocybin--summary of knowledge and new perspectives. *Eur Neuropsychopharmacol*, 24(3), 342-356. doi:10.1016/j.euroneuro.2013.12.006
164. Tyls, F., Palenicek, T., Kaderabek, L., Lipski, M., Kubesova, A., & Horacek, J. (2016). Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin. *Behav Pharmacol*, 27(4), 309-320.
165. Tyls, F., Viktorinova, M., Prokopcova, D., Korcak, J., Horacek, J., & Palenicek, T. (2016). *Psilocybin administration in clinical trial: acute effects, long-term effects and perception of music*. Paper presented at the International Conference on Psychedelic Research, Amsterdam.
166. Tyliš, F. (2015). Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*, 19(2), 8.

167. Vejmla, C. (2016). *EEG koreláty účinku serotonergních halucinogenů u laboratorního potkana*. (Msc diplomová práce), Univerzita Karlova.
168. Viktorinová, M., & Tylš, F. (2016). Nevědomé procesy lidské mysli - poznatky z psychedelického výzkumu. *Psychiatrie*, 20(2), 8.
169. Vogt, M., Gunn, C. G., Jr., & Sawyer, C. H. (1957). Electroencephalographic effects of intraventricular 5-HT and LSD in the cat. *Neurology*, 7(8), 559-566.
170. Vollenweider, F. X., Csomor, P. A., Knappe, B., Geyer, M. A., & Quednow, B. B. (2007). The effects of the preferential 5-HT_{2A} agonist psilocybin on prepulse inhibition of startle in healthy human volunteers depend on interstimulus interval. *Neuropsychopharmacology*, 32(9), 1876-1887. doi:10.1038/sj.npp.1301324
171. Vollenweider, F. X., & Geyer, M. A. (2001). A systems model of altered consciousness: integrating natural and drug-induced psychoses. *Brain Res Bull*, 56(5), 495-507.
172. Vollenweider, F. X., Leenders, K. L., Scharfetter, C., Maguire, P., Stadelmann, O., & Angst, J. (1997). Positron emission tomography and fluorodeoxyglucose studies of metabolic hyperfrontality and psychopathology in the psilocybin model of psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 16(5), 357-372. doi:10.1016/S0893-133X(96)00246-1
173. Vollenweider, F. X., Vollenweider-Scherpenhuyzen, M. F., Babler, A., Vogel, H., & Hell, D. (1998). Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport*, 9(17), 3897-3902.
174. von der Malsburg, C., & Schneider, W. (1986). A neural cocktail-party processor. *Biol Cybern*, 54(1), 29-40.
175. White, I. M., Whitaker, C., & White, W. (2006). Amphetamine-induced hyperlocomotion in rats: Hippocampal modulation of the nucleus accumbens. *Hippocampus*, 16(7), 596-603. doi:10.1002/hipo.20189
176. Winkler, P., & Csémy, L. (2014). Self-experimentations with psychedelics among mental health professionals: LSD in the former Czechoslovakia. *J Psychoactive Drugs*, 46(1), 11-19. doi:10.1080/02791072.2013.873158
177. Wischhof, L., Aho, H. E., & Koch, M. (2012). DOI-induced deficits in prepulse inhibition in Wistar rats are reversed by mGlu_{2/3} receptor stimulation. *Pharmacol Biochem Behav*, 102(1), 6-12. doi:10.1016/j.pbb.2012.03.011
178. Woo, T. U. (2014). Neurobiology of schizophrenia onset. *Curr Top Behav Neurosci*, 16, 267-295. doi:10.1007/7854_2013_243

179. Wood, J., Kim, Y., & Moghaddam, B. (2012). Disruption of prefrontal cortex large scale neuronal activity by different classes of psychotomimetic drugs. *J Neurosci*, 32(9), 3022-3031. doi:10.1523/JNEUROSCI.6377-11.2012
180. Yoshimura, M., Koenig, T., Irisawa, S., Isotani, T., Yamada, K., Kikuchi, M., Okugawa, G., Yagyu, T., Kinoshita, T., Strik, W., & Dierks, T. (2007). A pharmacoelectroencephalography study on antipsychotic drugs in healthy volunteers. *Psychopharmacology (Berl)*, 191(4), 995-1004. doi:10.1007/s00213-007-0737-8
181. Zavitsanou, K., Garrick, T., & Huang, X. F. (2004). Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28(2), 355-360. doi:10.1016/j.pnpbp.2003.11.005

9. Přílohy

9.1. Celkový seznam publikací autora

H-index: 3, počet citací 51 (bez autocitací 44), souhrnný IF = 23,2

Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J. Neurobiology of the effects of psilocybin in relation to its potential therapeutic targets. In: Preedy, VR., ed. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse - Volume 2: Stimulants, Club and Dissociative Drugs, Hallucinogens, Steroids, Inhalants and International Aspects*. New York: Elsevier, 2016, s. 782-793. ISBN: 978-0-12-800212-4. **Kapitola v knize.**

Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J. Psilocybin - summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 2014, roč. 24, č. 3, s. 342-356. ISSN: 0924-977X. **IF 4,595.**

Tylš, F., Páleníček, T., Kadeřábek, L., Lipski, M., Kubešová, A., Horáček, J. Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin. *Behavioural Pharmacology*. 2016. **IF 2,148**

Palenicek T, Fujakova M, Brunovsky M, Horacek J, Gorman I, Balikova M, Rambousek L, Syslova K, Kacer P, Zach P, Bubenikova-Valesova V, **Tyls F**, Kubesova A, Puskarcikova J, Hoschl C (2012) Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **IF 4.077**

Fujáková, M., Páleníček, T., Brunovský, M., Gorman, I., **Tylš, F.**, Kubešová, A., Řípková, D., Krajča, V., Horáček, J. The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, roč. 122, č. July, s. 212-221. ISSN: 0091-3057. **IF 2,608**

Páleníček T, Fujáková M, Brunovský M, Balíková M, Horáček J, Gorman I, **Tylš F**, Tišlerová B, Šoš P, Bubeníková-Valešová V, Höschl C, Krajča V. EEG spectral and coherence analysis of ketamine in rats – correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. *Neuropsychobiology* 2011;63(4):202-218. **IF 2.147**

Palenicek, T., Lhotkova, E., Zidkova, M., Balikova, M., Kuchar, M., Himl, M. Miksatkova, P., Cegan, M., Vales, K., **Tyls, F.**, Horsley, R.R. Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2016, **69**(August 2016), 49-59. **IF 4,361**

Kubesova, A., Tejkalova, H., Syslova, K., Kacer, P., Vondrousova, J., **Tyls, F.**, Fujakova, M., Palenicek., Horacek, J. (2014). Biochemical, histopathological and morphological profiling of a rat model of early immune stimulation: relation to psychopathology. *PloS one*, *10*(1). **IF 3,230**

Tyls, F. Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*. 2015, **19**(2), 104-112. ISSN 1211-7579.

Viktorinová, M., **Tyls, F.** Nevědomé procesy lidské mysli: poznatky z psychedelického výzkumu. *Psychiatrie*. 2016, **20**(2), 100-107. ISSN 1211-7579.

Nováková P., **Tyls F.**, Kubešová A., Kadeřábek L., Fujáková M., Páleníček T. Role kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. *Psychiatrie*, 2014; 18 (4): 186-192.

Balíková, M., Hložek, T., Páleníček, T., **Tyls, F.**, Viktorinová, M., Melicher, T., Androvičová, R., Tomíček, P., Roman, M., Horáček, J. Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy – implikace pro řízení motorových vozidel. *Soudní lékařství*, 2014, roč. 59, č. 1, s. 2-6. ISSN: 0371-1854.

Páleníček T., Fujáková M., **Tyls, F.**, Kubešová A., Brunovský M., Horáček J. Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací – animální model psychózy. *Psychiatrie*, 2011; 15(Suppl. 2): 44-48.

9.2. Seznam příložených publikací

1. Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J. Psilocybin - summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 2014, roč. 24, č. 3, s. 342-356.
2. Tylš, F. Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*. 2015, **19**(2), 104-112.
3. Viktorinová M., Tylš F. Nevědomé procesy lidské mysli. *Psychiatrie*, 2016.
4. Nováková P., Tylš F., Kubešová A., Kadeřábek L., Fujáková M., Páleníček T. Role kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. *Psychiatrie*, 2014; 18 (4): 186-192.
5. Tylš F, Palenicek T, Kaderabek L, Fujakova M, Kubesova A, Horacek J: Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin, *Behavioral Pharmacology* 2016.
6. Palenicek T, Fajakova M, Brunovsky M, Horacek J, Gorman I, Balikova M, Rambousek L, Syslova K, Kacer P, Zach P, Bubenikova-Valesova V, Tyls F, Kubesova A, Puskarcikova J, Hoschl C (2012) Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **IF 4.077**
7. Páleníček T, Fujáková M, Brunovský M, Balíková M, Horáček J, Gorman I, Tylš F, Tišlerová B, Šoš P, Bubeníková-Valešová V, Höschl C, Krajča V. EEG spectral and coherence analysis of ketamine in rats – correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. *Neuropsychobiology* 2011;63(4):202-218. **IF 2.147**
8. Fujáková, M., Páleníček, T., Brunovský, M., Gorman, I., Tylš, F., Kubešová, A., Řípková, D., Krajča, V., Horáček, J. The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of

psychosis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, roč. 122, č. July, s. 212-221. ISSN: 0091-3057. **IF 2,608**

9. Palenicek, T., Lhotkova, E., Zidkova, M., Balikova, M., Kuchar, M., Himl, M., Miksatkova, P., Cegan, M., Vales, K., **Tyls, F.**, Horsley, R.R. Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2016, **69**(August 2016), 49-59.
10. Balíková, M., Hložek, T., Páleníček, T., **Tylš, F.**, Viktorinová, M., Melicher, T., Androvičová, R., Tomíček, P., Roman, M., Horáček, J. Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy – implikace pro řízení motorových vozidel. *Soudní lékařství*, 2014, roč. 59, č. 1, s. 2-6. ISSN: 0371-1854. **bez IF**
11. Palenicek, T., Fujakova, M., **Tyls, F.**, Kubsova, A., Brunovsky, M., & Horacek, J. (2011). Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací – animální model psychózy. *15*(Supplementum 2), 5. **bez IF**