



# FARMAKOLOGICKÉ OVLIVNĚNÍ PAMĚTI: ÚLOHA OXYTOCINU A NĚKTERÝCH JEHO DERIVÁTŮ

**Barbora Kopejtková**

Katedra biochemie PŘF UK v Praze  
Ústav lékařské biochemie 1. LF UK v Praze,  
laboratoř biochemické neurofarmakologie

Vedoucí práce: doc. MUDr. Věra Klenerová, DrSc.  
doc. RNDr. František Novák, CSc.

Bakalářská práce

Praha 2008

Přírodovědecká fakulta UK

KNIHOVNA CHEMIE



3233218490

**UNIVERZITA KARLOVA v Praze**

Přírodovědecká fakulta

Oborová knihovna chemie

Albertov 6, 128 43 Praha 2

IČO: 00216208, DIČ: CZ00216208

UK 22

*pr.č. 846/08 stud  
(biochemie)*

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením školitelů a všechny použité prameny jsem řádně citovala.

V Praze dne .5.6..... 2008.

Podpis ...*Kateřina Nová*.....

## **Poděkování**

Chtěla bych vyjádřit své poděkování vedoucí bakalářské práce doc. MUDr. Věře Klenerové, DrSc. a Prof. MUDr. Sixtovi Hynie, DrSc. za odborné vedení a poskytnutí ideálních podmínek k úspěšnému sepsání bakalářské práce. Velký dík také patří Prof. RNDr. Anně Strunecké, DrSc. za podnětné rady a cenné připomínky při přípravě mé bakalářské práce. Rovněž bych chtěla poděkovat rodičům za podporu při studiu.

## Obsah

1. ÚVOD.....	6
2. CÍL PRÁCE.....	7
3. STRUKTURA A FUNKCE OXYTOCINU.....	7
3.1. Struktura oxytocinu.....	7
3.2. Biologické vlastnosti oxytocinu .....	11
3.3. Mechanismus účinku oxytocinu .....	14
4. VLIV OXYTOCINU NA PAMĚŤ .....	17
4.1. Druhy paměti.....	17
4.2. Anatomické koreláty paměťových systémů.....	19
4.3. Molekulární mechanismy paměti.....	22
4.4. Studie prováděné na animálních modelech .....	27
4.4.1. Testování vlivu oxytocinu na animálních modelech .....	27
4.4.2. Výzkum s linií myší s knokautovaným receptorem pro oxytocin .....	28
4.4.3. Inaktivace genu pro oxytocin a receptor 1b pro vasopresin vede k poškození efektu Bruceové u domácích myší.....	28
4.4.4. Vliv derivátů oxytocinu na sociální rozpoznání u potkanů .....	29
4.4.5. Vztah struktura-aktivita oxytocinu .....	30
4.5. Studie prováděné na člověku .....	33
4.5.1. Testování vlivu oxytocinu na lidskou paměť.....	33
4.5.2. Selektivní amnestické účinky oxytocinu na lidskou paměť .....	34
4.5.3. Oxytocin ovlivňuje lidskou paměť na tváře.....	36
5. SOUHRN .....	38
6. LITERATURA.....	39

## Seznam zkratek

AMP.....	adenosin-5'-monofosfát
Asn .....	asparagin
cAMP .....	cyklický adenosin-3',5'-monofosfát
CNS.....	centrální nervový systém
CRE .....	část DNA vázající CREB (cAMP response element)
CREB .....	transkripční faktor aktivovaný v odezvě na zvýšení hladin cAMP (cAMP response element binding protein)
Cys .....	cystein
DG.....	diacylglycerol
DNA .....	deoxyribonukleová kyselina
G-protein.....	protein vázající guaninové nukleotidy
GDP .....	guanosin-5'-difosfát
Gln .....	glutamin
Gly .....	glycin
GPCR .....	receptory spřažené s G-proteiny (G-protein coupled receptors)
GTP .....	guanosin-5'-trifosfát
Ile .....	isoleucin
IP <sub>3</sub> .....	inositol-1,4,5-trisfosfát
IUPAC.....	Mezinárodní unie čisté a užité chemie (International Union of Pure and Applied Chemistry)
Leu .....	leucin
LG .....	prolyl-leucyl-glycinamid
PKA .....	proteinkinasa A
PLG .....	leucyl-glycinamid
Pro .....	prolin
Tyr .....	tyrosin

# 1. Úvod

Oxytocin je peptidový hormon, který je produkován v hypotalamu a uvolňován v zadním laloku hypofýzy. U savců má hlavní roli při porodu a laktaci, neboť zajišťuje stahy hladkého svalstva dělohy a ejekci mléka. Oxytocin a jeho deriváty mají terapeutické využití v současné medicíně (viz Hynie a Klenerová, 2008). Syntetický oxytocin se používá k indukci porodu a posílení děložních kontrakcí.

Oxytocin má rozsáhlé účinky jak na periferiích, tak v centrálním nervovém systému. Receptory pro tento hormon lze najít v mnoha částech mozku. Oxytocin je významným hormonálním regulátorem sexuálního a mateřského chování. Na základě různých testů bylo prokázáno, že zvyšuje pocit důvěry a snižuje strach. Spolu s příbuzným hormonem vasopresinem pomáhá vytvořit intimní vazby soužití, protože stimuluje preferenci jednoho sexuálního partnera.

V posledních letech se zjistilo, že oxytocin zasahuje i do procesů učení a paměti (viz Hynie a Klenerová, 2008). Je zapojen do zapomínání porodních bolestí u matek. Bylo dokázáno, že oxytocin usnadňuje vyhasínání únikové reakce a zmenšuje zásobu verbální paměti. Vliv oxytocinu na paměť lze pozorovat na základě různých testů prováděných jak na animálních modelech, tak u lidí.

Paměť lze experimentálně studovat. Studium paměti a učení si klade za cíl pochopení mechanismů, na jejichž základě fungují, a nalezení možností, jak tyto procesy ovlivnit. U člověka lze sledovat změny paměti po podání dávky oxytocinu v porovnání s placebem. Tyto změny lze hodnotit pomocí testů zaměřených na sledování různých druhů paměti. Nejčastěji se sleduje učení a krátkodobá a dlouhodobá paměť. Jako animální modely se nejčastěji užívají potkani, u kterých lze například pozorovat změny v krátkodobé čichové paměti.

Studium centrálních regulačních účinků oxytocinu přineslo mnoho nových poznatků a ukázalo na možnosti terapeutického použití při léčbě sexuálních poruch, afiliačních poruch, u sociálních fobií a obsedantně kompulzivních poruch (viz Hynie a Klenerová, 2008).

## 2. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je shrnutí dosavadních poznatků o centrálních účincích oxytocinu a především o jeho účincích na paměť. Rešerše bude zaměřena na sledování vlivu oxytocinu a jeho derivátů na paměť u animálních modelů a poté také u lidí.

## 3. Struktura a funkce oxytocinu

### 3.1. Struktura oxytocinu


Oxytocin je peptidový hormon skládající se z devíti aminokyselin. Strukturu tohoto nonapeptidu, zejména pokud jde o sled aminokyselin, objasnil Vincent du Vigneaud v roce 1953 (Du Vigneaud, 1955). Za syntézu oxytocinu a jemu příbuznému hormonu vasopresinu, stanovení jejich struktury a jejich izolaci v čistém stavu byl odměněn Nobelovou cenou. Oxytocin obsahuje leucin, isoleucin, tyrosin, prolin, glutamin, asparagin, glycin a dvě molekuly cysteinu. Poslední aminokyselina glycin je ve formě amidu. Molární hmotnost, sumární vzorec a systematický název podle mezinárodní unie čisté a užité chemie (IUPAC) jsou zaznamenány v tabulce 1.

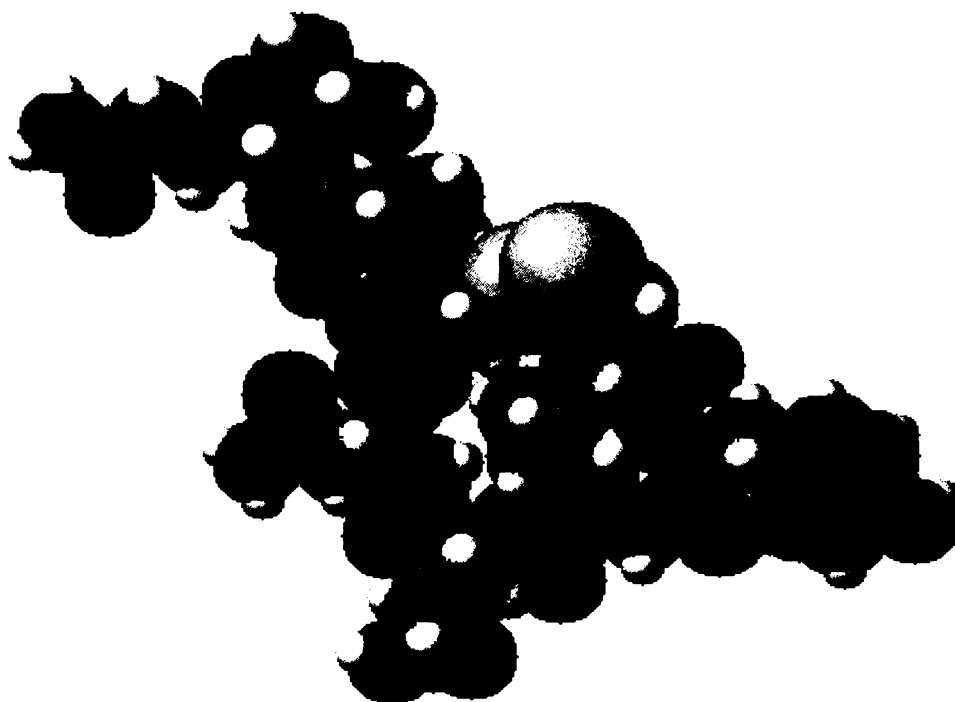
Molekula oxytocinu je složena z cyklického útvaru, který je uzavřen díky disulfidovému můstku mezi dvěma molekulami cysteinu a „postranního řetězce“ tří aminokyselin. Cyklickou část molekuly oxytocinu tvoří šest aminokyselin - asparagin, glutamin, isoleucin, tyrosin a dvě molekuly cysteinu, zbylý tripeptid se skládá z prolinu, leucinu a glycinu. Lze tedy říci, že molekula oxytocinu má tvar číslice „6“ (Hanč a Pádr, 1982). Trojrozměrná struktura molekuly oxytocinu je znázorněna na obrázku 1 a strukturální vzorec oxytocinu na obrázku 2.



Tabulka 1:

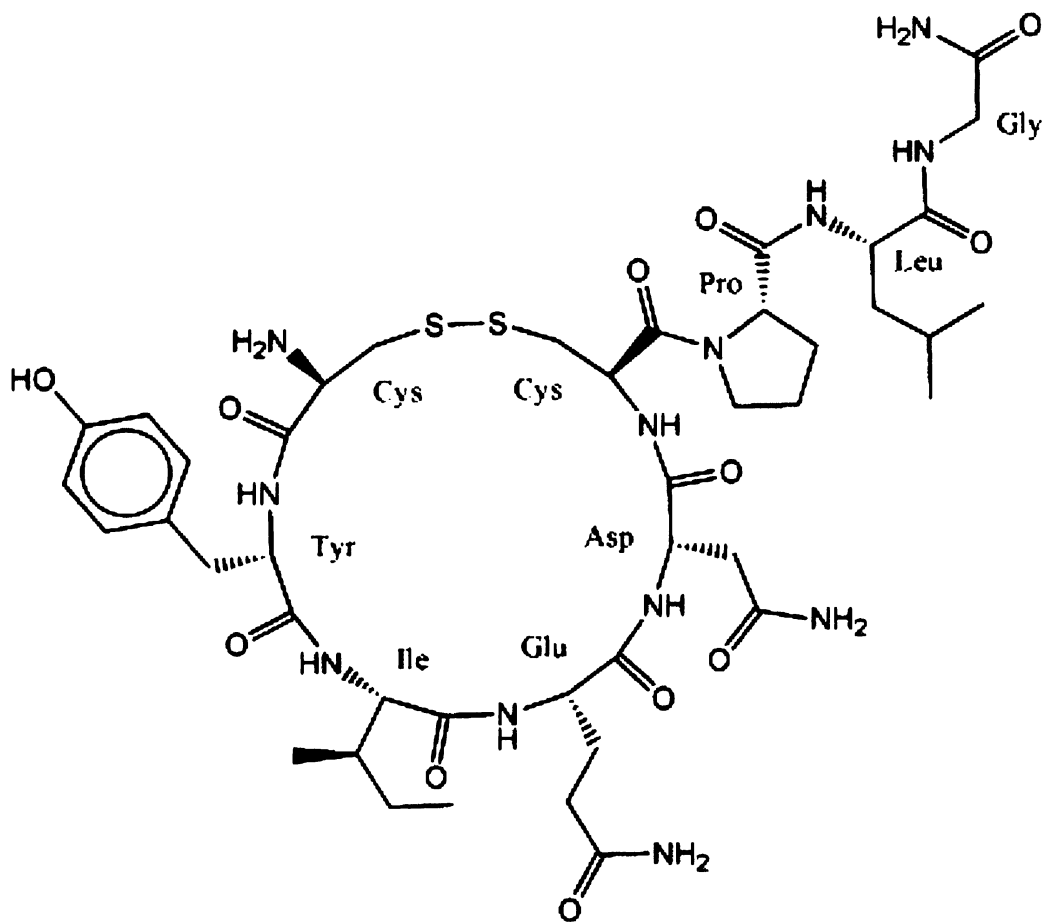
Molární hmotnost, sumární vzorec, sekvence aminokyselin a systematický název oxytocinu podle názvosloví Mezinárodní unie čisté a užité chemie (IUPAC). Molekula oxytocinu obsahuje cyklickou část tvořenou šesti aminokyselinami, která je uzavřená díky disulfidové vazbě mezi molekulami cysteinu. „Postranní“ řetězec je tvořen třemi aminokyselinami.

molární hmotnost	1007.19 g/mol
sumární vzorec	$C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$
sekvence aminokyselin	 <p>H-Cys-Tyr-Ile-Glu(NH<sub>2</sub>)-Asp(NH<sub>2</sub>)-Cys-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub></p>
systematický název podle IUPAC	3-(19-amino-13-sec-butyl-7-(carboxymethyl)-4-(2-(1-(carboxymethylamino)-5-guanidino-1-oxopentan-2-ylcarbamoyl)pyrrolidine-1-carbonyl)-16-(4-hydroxybenzyl)-6,9,12,15,18-pentaoxo-1,2-dithia-5,8,11,14,17-pentaazacycloicosan-10-yl)propanoic acid



Obrázek 1 :

Trojrozměrná struktura oxytocinu. Dvě žluté kuličky znázorňují atomy síry, šedé atomy uhlíku, červené kyslíku, modré dusíku a malé bílé představují atomy vodíku. Mezi atomy síry je disulfidový můstek, který uzavírá cyklickou část molekuly oxytocinu. Molekula oxytocinu se skládá z devíti aminokyselin. Šest aminokyselin tvoří cyklickou část a zbylé tři „postranní řetězec“.



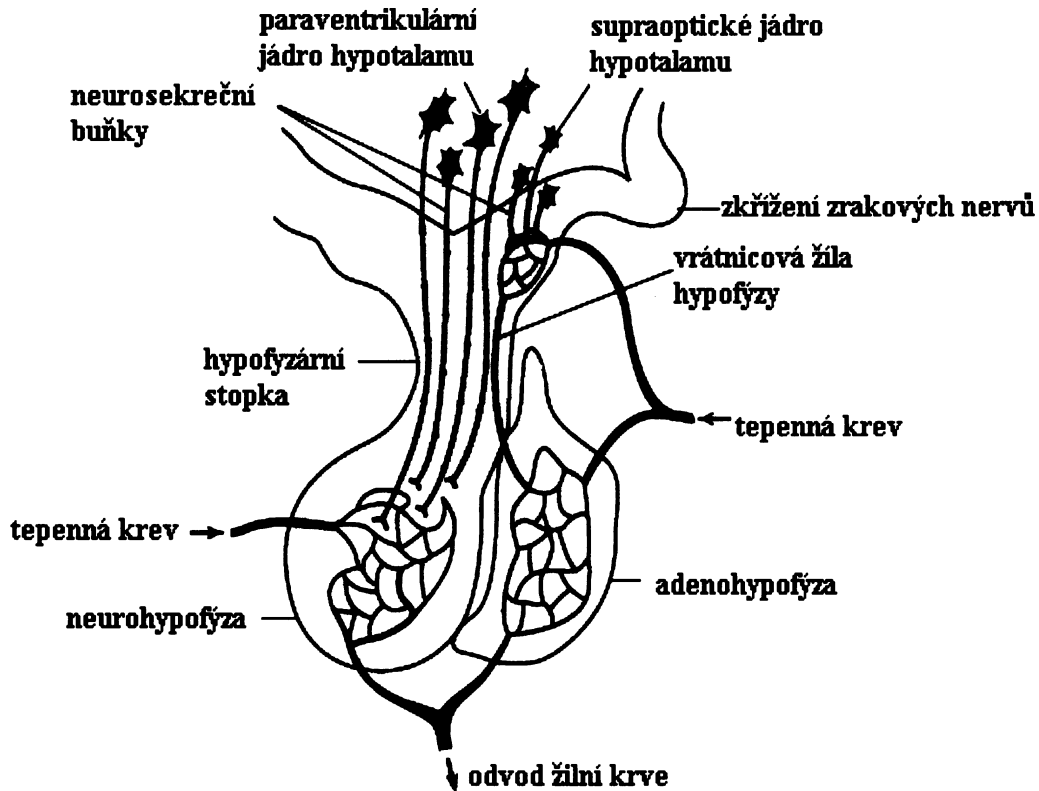
Obrázek 2:

Molekula oxytocinu je tvořena devíti aminokyselinami. Názvy jednotlivých aminokyselin jsou na obrázku popsány zkratkami. Cyklická část, která je uzavřena díky disulfidovému můstku mezi atomy síry molekul cysteinu, se skládá ze šesti aminokyselin: asparaginu, glutaminu, isoleucinu, tyrosinu a dvou molekul cysteinu. „Postranní řetězec“ je tvořen třemi aminokyselinami: prolinem, leucinem a glycinem, který je ve formě amidu.

## 3.2. Biologické vlastnosti oxytocinu

Oxytocin je syntetizován neurony magnocelulární složky supraoptického a paraventriculárního jádra hypotalamu. V tělech neuronů vzniká prohormon oxytocinu, který je dopraven nervovými vlákny v transportních granulech do terminálních axonů v hypofýze. Prohormon oxytocinu je uvolňován na synapsích v zadním laloku hypofýzy – neurohypofýze, kde je skladován (Hanč a Pádr, 1982). Tento hypotalamo-hypofyzární systém je znázorněn na obrázku 3.

Prohormon oxytocinu je transportovaný ve vazbě na specifický protein neurofyphysin axonálním tokem v nervových drahách z hypotalamu do neurohypofýzy. V neurohypofýze je oxytocin, ve spojení s nosičovým polypeptidem neurophysinem, uzavřen v granulech. Z těchto granulů je uvolňován exocytosou. Z neurohypofýzy, která slouží jako „zásobárna“ neurohormonů, je po příslušném stimulu vylučován do krevního oběhu. Během transportu je prohormon přeměněn enzymatickým štěpením na oxytocin (Hanč a Pádr, 1982; Pocock a Richards, 2006).



Obrázek 3:

Hypotalamo-hypofyzární systém. Hypofýza je endokrinní žláza, která je tvořena dvěma laloky – zadní lalok se nazývá neurohypofýza, přední adenohypofýza; mezi oběma laloky se nachází ještě intermediální část hypofýzy. Hypofýza je uložena v tureckém sedle klínové kosti a je napojena na hypotalamus hypofyzární stopkou. V supraoptickém a paraventrikulárním jádru hypotalamu je syntetizován oxytocin, odkud je nervovými vlákny transportován do zadního laloku hypofýzy, tzv. neurohypofýzy, kde je skladován.

Uvolňování oxytocinu je přednostně regulováno cholinergními a noradrenergními neurotransmitery a opioidními peptidy. Sekreci oxytocinu stimuluje i tyreotropin-releasing hormon. Na počet oxytocinových receptorů mají také vliv estrogenu. Sekrece oxytocinu je řízena nervovými podněty a probíhá v pulzech (Pocock a Richards, 2006).

Periferně oxytocin působí především na mléčné žlázy a dělohu, může se podílet rovněž na zániku žlutého tělíska. Oxytocin vyvolává stahy hladkého svalstva, což se uplatňuje zejména při reprodukci - je uvolňován do krevního oběhu při porodu a při laktaci. U mužů způsobuje stahy prostaty k uvolnění spermií. Vyvolává kontrakci myoepiteliálních buněk, které se nacházejí v prsní žláze a tím ovlivňuje uvolnění mléka při sání kojence. V děloze jsou specifické receptory pro oxytocin, jejichž hustota se zvyšuje s blížícím se porodem. Citlivost dělohy na oxytocin je zvyšována estrogenu a tlumena progesteronem. Vzhledem k jeho podobnosti s vasopresinem má i slabé antidiuretické účinky.

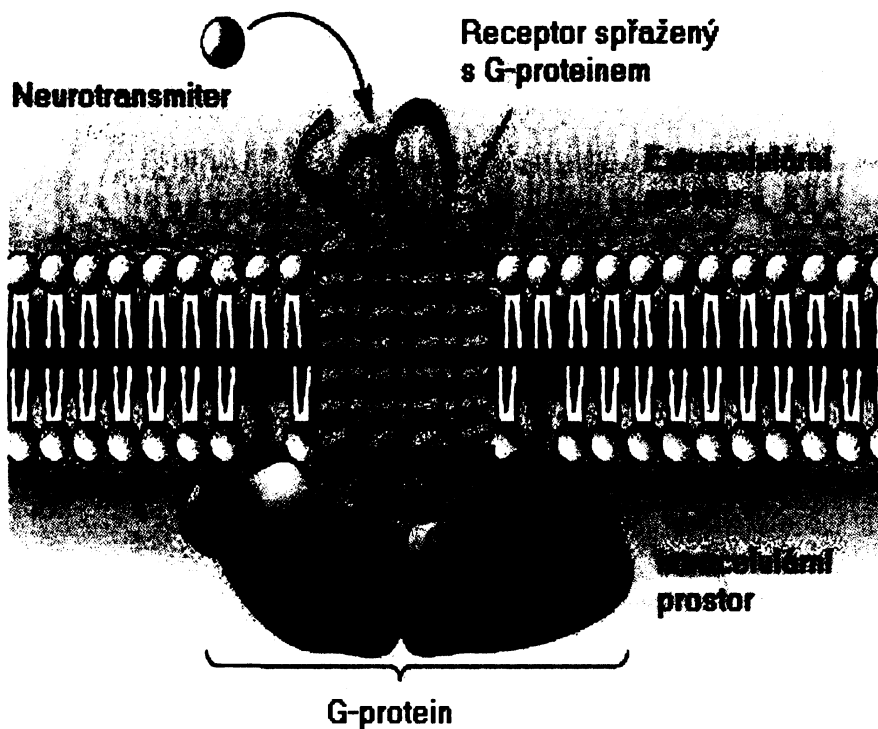
Mnohé studie ukázaly, že oxytocin má kromě uvedených periferních účinků i účinky v centrálním nervovém systému. Má vůdčí roli v rozvoji mateřského a sexuálního chování. Vylučuje se v organismu při pohlavním styku, jeho hladina se zvyšuje tělesným kontaktem. Oxytocin vyvolává také pocit uvolněného uspokojení, náklonnost a je evidentně antistresovým působkem. Podle posledních poznatků zvyšuje vzájemnou důvěru mezi lidmi a ovlivňuje kognitivní funkce (viz Heinrichs et al., 2004; Stárka, 2007; Hynie a Klenerová, 2008).

Oxytocin působí jako hormon a je přenášen krví ke vzdáleným cílovým buňkám, na rozdíl od jeho funkce neurohormonu, kde působí na různých místech v mozku. Některé typy neuronů uvolňují oxytocin do synaptické štěrbin, má tedy také funkci jako lokální neurotransmitter, který ovlivňuje aktivitu pouze jedné nebo několika prostorově blízkých buněk. Receptory pro oxytocin byly nalezeny v různých částech mozku, zvláště v hipokampu a septu. To dokazuje, že i mozek je cílovým orgánem oxytocinu a že tento peptid působí nejen dálkově jako neurohormon, ale i lokálně jako neuromediátor.

### 3.3. Mechanismus účinku oxytocinu

Schopnost buňky rozpoznávat a odpovídat na látkový signál vyžaduje přítomnost specifických receptorů. Jednou ze základních skupin molekul hormonálních receptorů, mezi které patří receptor pro oxytocin, jsou receptory spřažené s G-proteiny (GPCR). Tento název získaly proto, že po vazbě hormonu na receptor dochází ke spřažení aktivované receptorové molekuly s membránovou bílkovinou, která má vazebné místo pro guanosinové nukleotidy. GPCR je znázorněn na obrázku 4. Velká rodina receptorů spřažených s G-proteiny může být rozdělena do několika tříd (viz Bockaert a Pin, 1999). Receptor pro oxytocin je řazen do třídy rhodopsinového typu.

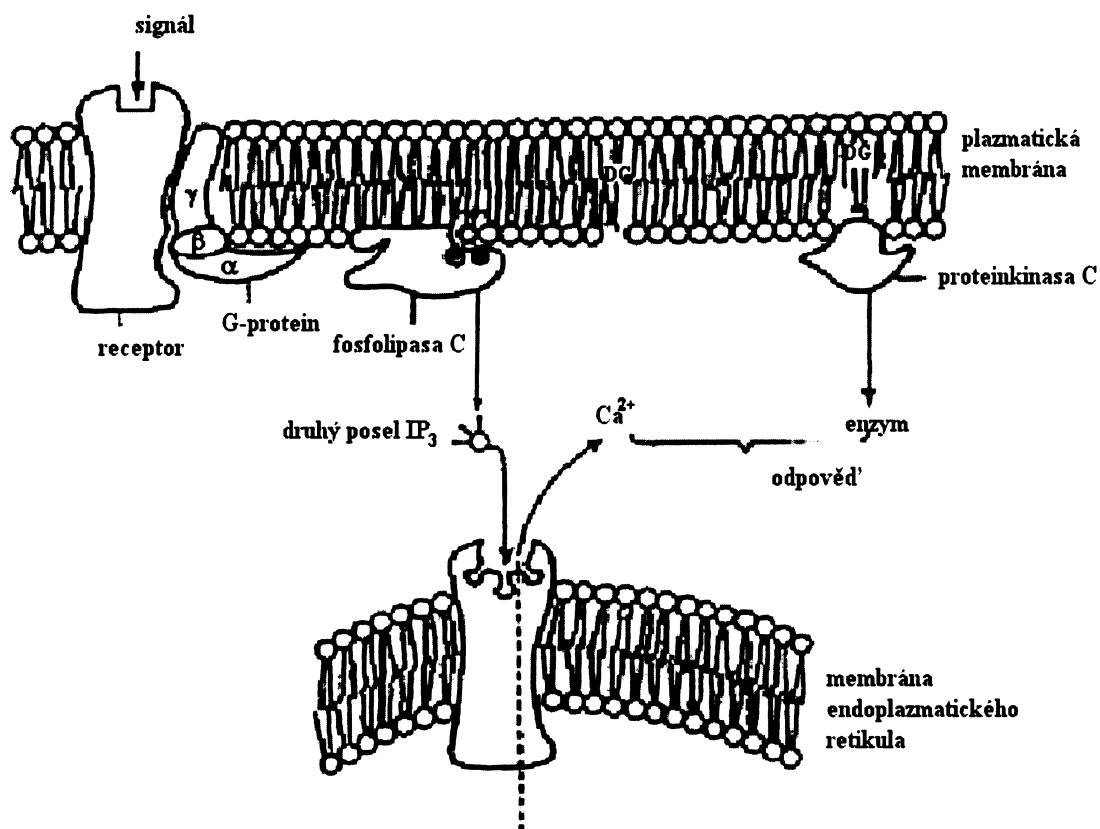
Všechny GPCR jsou tvořeny jedním polypeptidovým řetězcem, který prochází cytoplazmatickou membránou v sedmi kličkách, přičemž N-konec řetězce je umístěn vně buňky a C-konec uvnitř buňky (viz Gimpl a Fahrenholz, 2001). G-protein je tvořen třemi podjednotkami ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ).  $\alpha$ -podjednotka váže v „klidovém stavu“ guanosindifosfát (GDP) a v „aktivovaném stavu“ váže guanosintrifosfát (GTP). Vazba hormonu vyvolá přeskupení jednotlivých podjednotek a tím se vytvoří funkční spojení s receptorem a G-proteinem. K tomu přispívá i pohyblivost G-proteinu. Aktivovaný komplex receptor-GTP-protein pak vyvolá aktivaci efektorového enzymu, který katalyzuje vznik molekul tzv. druhých posílů. Aktivace receptoru pro oxytocin je spojována s aktivací Gq proteinu a efektorového enzymu fosfolipasy C, tedy s aktivací fosfoinositidového systému (viz Gimpl a Fahrenholz, 2001). Fosfolipasa C je efektorový enzym, který štěpí fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát na diacylglycerol a inositol-1,4,5-trisfosfát, který má funkci druhého posla. Inositol-1,4,5-trisfosfát aktivuje proteinkinasu C, která katalyzuje fosforylaci mnoha dalších proteinů (viz Strunecká a Patočka, 2006). Při regulaci oxytocinu mají vliv jak ionty vápníku, tak fosforylace. Fosfoinositidová signální dráha je znázorněna na obrázku 5. Tento mechanismus je vysoce ekonomický – interakce hormonu s receptorem je signálem pro spuštění celé kaskády dějů (Pocock a Richards, 2006).



Obrázek 4:

Receptory spřažené s G-proteiny jsou heptahelikální proteiny se sedmi membránovými doménami, které procházejí napříč plazmatickou membránou. G-proteiny jsou velká rodina buněčných receptorových proteinů na povrchu buněk, která přenáší signál do buňky. Všechny G-proteiny jsou složeny ze tří podjednotek, zvaných  $\alpha$ ,  $\beta$  a  $\gamma$  (podle snižující se molekulární hmotnosti).





Obrázek 5:

Oxytocin využívá fosfoinositidovou signální dráhu, která vede od receptorů spojených G-proteiny. Po aktivaci receptorů dochází ke štěpení fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu v plazmatické membráně působením fosfolipasy C. Oba vznikající produkty – inositol-1,4,5-trisfosfát (IP<sub>3</sub>) i diacylglycerol (DG) mají funkci druhých poselů. Navázáním IP<sub>3</sub> na endoplazmatické retikulum dojde k otevření Ca<sup>2+</sup> kanálů a vyplavení těchto iontů do cytosolu. Tento Ca<sup>2+</sup> signál spouští řadu biologických dějů. Diacylglycerol zůstává připojený k plazmatické membráně, kde pomáhá aktivovat proteinkinasa C, která ke své aktivitě potřebuje navázat Ca<sup>2+</sup> ionty (Alberts et al., 1998).

## 4. Vliv oxytocinu na paměť

### 4.1. Druhy paměti

Paměť se dělí podle délky doby uchování zapamatovaného na krátkodobou a dlouhodobou, užitečné je rozdělení paměti na explicitní (deklarativní) a implicitní (nedeklarativní) (viz Klenerová a Hynie, 2002).

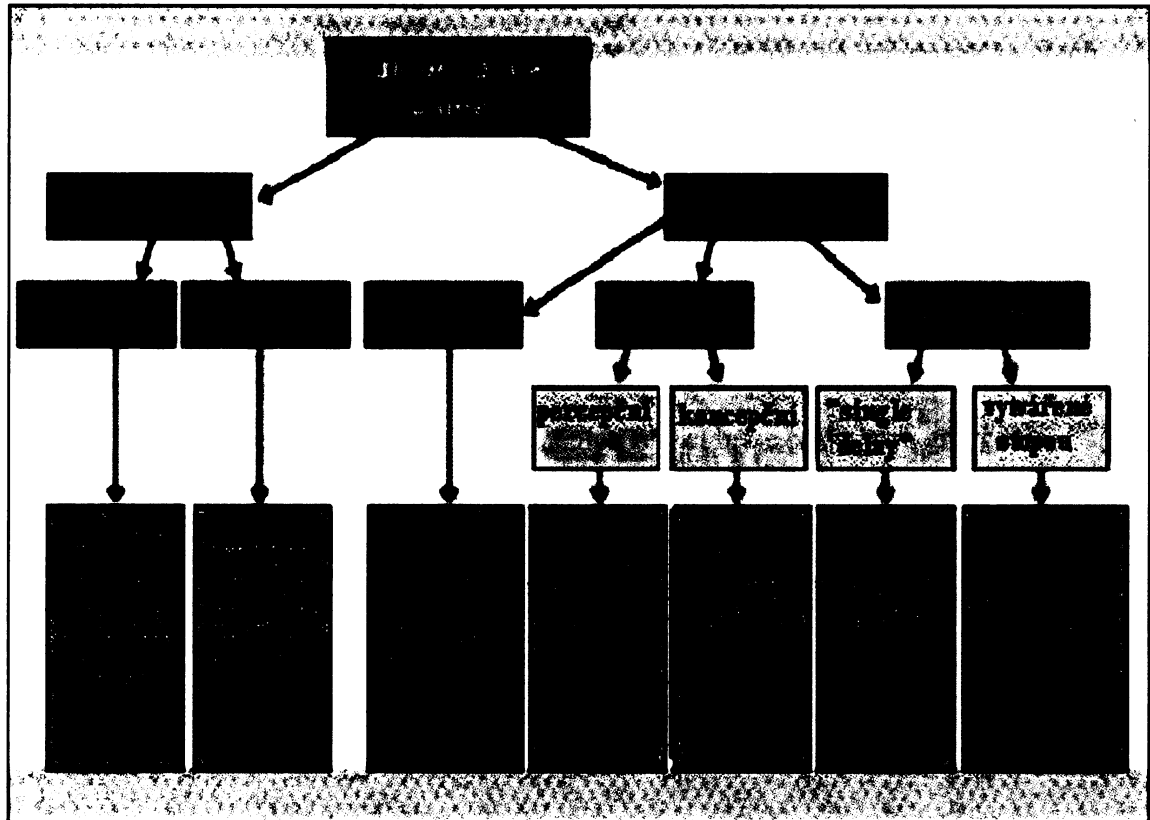
Krátkodobá paměť uchovává informace přechodně, většinou jen na dobu 60 s, a dává je k dispozici pro další manipulaci a zpracování. Umožňuje řešit aktuální problémy, proto se pro ní také často používá termín pracovní paměť. Většina lidí je schopna si současně zapamatovat pět až devět položek, krátkodobá paměť má tedy omezenou kapacitu. Informace mohou z pracovní paměti vymizet nebo se uložit do dlouhodobé paměti.

Díky dlouhodobé paměti jsme schopni si vybavit informace s časovým odstupem delším než jedna až dvě minuty nebo poté, co jsme se jimi přestali vědomě zabývat. Do dlouhodobé paměti se informace přepisuje konsolidací, která trvá několik minut i hodin. Většina informací je konsolidována do 30 minut. Během této doby je informace labilní a dojde-li k přerušení, informace se ztrácí.

Explicitní paměť, někdy označována také jako deklarativní, představuje vědomé vybavení informací nebo příběhů, které se odehrály. Obvykle se dále dělí na epizodickou a sémantickou paměť. Epizodická paměť se vztahuje k uplynulým událostem a dějům, které jsme prožili a ke kterým máme osobní vztah. Pro sémantickou paměť jsou charakteristické všeobecné informace, pojmy, faktografické materiály, které si během života osvojujeme.

Implicitní neboli nedeklarativní paměť umožňuje promítání dřívějších zkušeností a tím usnadňuje naše chování a motorické dovednosti. Lze ji rozdělit na procedurální paměť a na priming. Procedurální paměť zajišťuje, že opakováním určité činnosti si tuto činnost zautomatizujeme do budoucna a tím se vytvoří nová dovednost (viz Marsalová et al., 2002). Na rozdíl od deklarativní paměti je pro ni charakteristické pomalé učení a odolnost vůči zapomínání. Priming je nevědomá paměť, do značné míry automatická; jedná se o zvýšení výkonnosti paměti ihned poté, co jsme byli vystaveni obrazovým nebo

verbálním podnětům se zřejmým vztahem k danému úkolu (viz Rusina, 2004). Druhy paměti a jim odpovídající neuronální systémy jsou uvedeny na obrázku 6.



Obrázek 6:

Uvedení terminologie paměti a struktur v centrálním nervovém systému zodpovědných za příslušný typ paměti (podle Thopson a Kim, 1996).

Deklarativní paměť uchovává fakta a informace získané učením a nazývá se také explicitní; lze ji charakterizovat jako paměť, která odpovídá na otázku „co“.

Nedeklarativní paměť (implicitní) se skládá z učení dovedností, podnícení (priming), podmiňování a neasociativní paměti, a proto se nazývá také procedurální; lze ji charakterizovat jako paměť, která odpovídá na otázku „jak“. U „single delay“ není časová prodleva mezi podmíněným a nepodmíněným reflexem (viz Klenerová a Hynie, 2002) (převzato z Klenerová a Hynie, 2002).

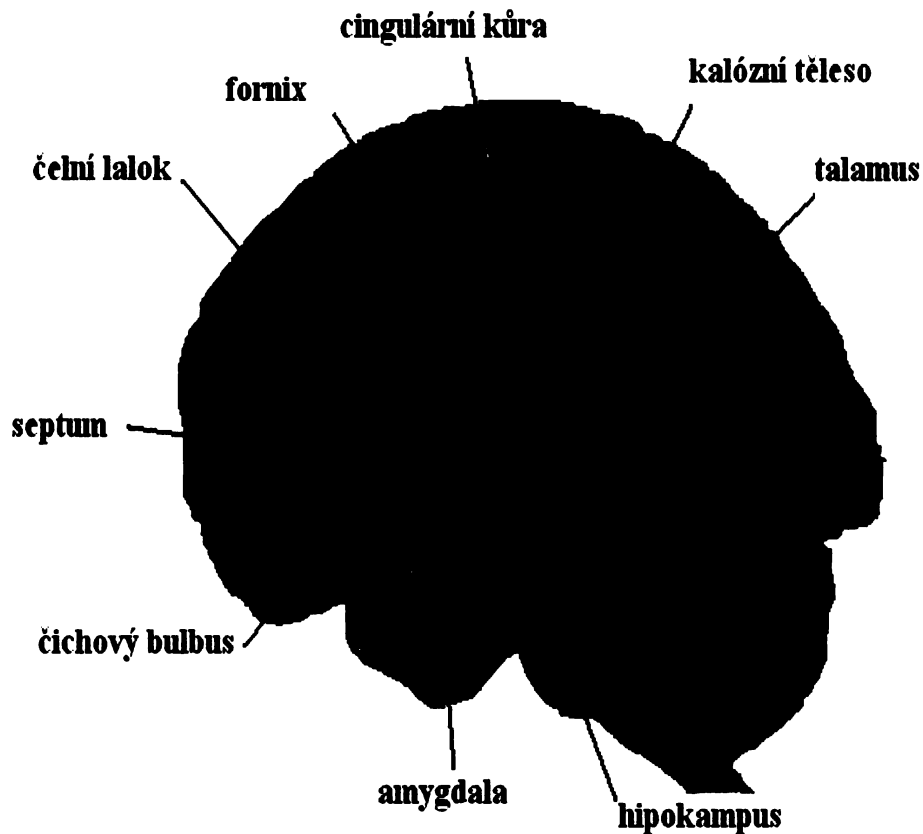
## 4.2. Anatomické koreláty paměťových systémů

Dva hlavní druhy paměti jsou paměť deklarativní (explicitní) a nedeklarativní (implicitní); tyto typy paměti jsou spojovány s různými oblastmi mozku a funkcí neuronálních okruhů v CNS (Thompson a Kim, 1996). Důležitým anatomickým korelátem je například hipokampus, ve kterém se zpracovává celá senzorická informace ze všech oblastí a při jeho poruše dochází k amnézii. Amygdala je spojena s emoční pamětí, uchovává vzpomínky na citové zabarvení našich prožitků. Diencefalón a mediální části spánkových laloků jsou charakteristické pro sémantickou a epizodickou paměť. Mozeček zprostředkovává vztah mezi smyslovými podněty a hybnou odpovědí. Striatum je spojeno s motorickými dovednostmi a týlní, spánkový a čelní lalok zajišťují priming (viz Koukolík, 2008; Rodriguez a Mohr, 2004).

V zapamatování a zpracování emočních reakcí hraje hlavní roli amygdala. Poruchy amygdaly jsou spojeny se strachem, autizmem, depresí, narkolepsií, posttraumatickou stresovou poruchou, fobiemi, frontotemporální demencí a schizofrenií (viz Klenerová a Hynie, 2007). Poškození emoční paměti u pacientů s Alzheimerovou chorobou také souvisí s rozsahem poškození amygdaly (viz Talarovicova et al., 2007).

Amygdala a hipokampus jsou součástí limbického systému, který je důležitý pro regulaci lidské emocionality, motivace, paměti a učení. Struktury limbického systému jsou znázorněny na obrázku 7. V mozku je oxytocin je distribuován především do limbického systému, odkud vycházejí podněty pro četné centrální účinky. Limbický systém má hlavní úlohu při zpracování, integraci a generalizaci informací. Aktivaci limbického systému i dalších oblastí mozku lze studovat pomocí zobrazovacích metod.

## Limbický systém



Obrázek 7:

Oxytocin působí zvláště v limbickém systému, který má důležitou úlohu v učení, paměti, emocích a chování. Hlavní úlohu má při zpracování, integraci a generalizaci informací. Významnými anatomickými koreláty paměti je amygdala a hipokampus. Hipokampus zajišťuje zapamatování prostých fakt, je považován za bránu deklarativní paměti. Amygdala uchovává vzpomínky na citové zbarvení našich prožitků.

Aktivaci limbického systému i dalších oblastí mozku lze studovat pomocí zobrazovacích metod.

Za jakousi bránu deklarativní paměti lze považovat hipokampus, který představuje fylogeneticky starou oblast mozkové kůry. Jeho neuronální okruhy hrají úlohu v paměti prostorové, časové, sémantické a logické. Všechny informace, které jsou uvědomovány a zachyceny v různých korových centrech (např. zrakové či sluchové vjemy, řeč apod.), se dostávají do hipokampální krajiny, kde jsou zpracovány a dále převedeny do jednotlivých asociačních oblastí mozkové kůry k následnému uložení.

Hlavní strukturou pro správné fungování deklarativní epizodické paměti je hipokampální formace společně s přilehlou temporální oblastí a prefrontální kůra. Kódování slovních informací do epizodické paměti aktivuje převážně levostrannou dolní prefrontální kůru. Kódování neverbálních informací do epizodické paměti aktivuje převážně pravostrannou dolní prefrontální kůru (viz Koukolík, 2008).

Deklarativní sémantická paměť není omezena na mediální temporální oblast, k poškození této paměti dochází při rozsáhlých lezích kůry temporální, parietální a částečně i okcipitální oblasti. Sémantický systém je tvořen rozsáhlými, do jisté míry vymezenými oblastmi levostranné okcipitální, parietální a frontální kůry na zevní i spodní ploše hemisféry. Tyto korové oblasti pracovávají informace o tvaru i pohybu objektů, i o jejich užívání. V temporální oblasti jsou zpracováván generické informace a informace o unikátních objektech (viz Koukolík, 2008).

Pro krátkodobou paměť je klíčové propojení tří funkčních okruhů: centrálního exekutivního (asociační kůra dorzolaterální frontální krajiny) a dvou okruhů „unimodálních“, zahrnujících asociační zrakové a sluchové oblasti (viz Rusina, 2004).

Procedurální paměť je spojena se subkortikálními okruhy, zvláště s mozečkem a bazálními ganglii. Implicitní paměť není vázána na hipokampální okruhy (viz Rusina, 2004).

### 4.3. Molekulární mechanismy paměti

Jakým způsobem je informace v nervovém systému uložena? Ukazuje se, že klíčovou úlohu v této otázce hrají vlastnosti synaptického přenosu. Plasticita mozku, která úzce souvisí s naší identitou, je při hlubším pohledu odrazem plasticity neuronových spojení. Synaptická plasticita je proces, ve kterém synaptické spojení mění svou účinnost v důsledku předcházející aktivity. Podstatou synaptické plasticity mohou být změny stavby neuronového spojení, což se uplatňuje zejména během vývoje a v reakci na poškození (vznik a zánik neuronů, růst jejich výběžků a trnů, přebudování, případně vytváření nových synapsí). Jemnější metody však prokazují, že změny mohou být i na úrovni molekulární (aktivita enzymů, zejména aktivace proteosyntézy a změny ve tvorbě a výdeji mediátorů, aktivace receptorů, úprava aktivity iontových kanálů). Obě úrovně neuroplastických dějů se promítají do změn funkčních parametrů synaptického přenosu.

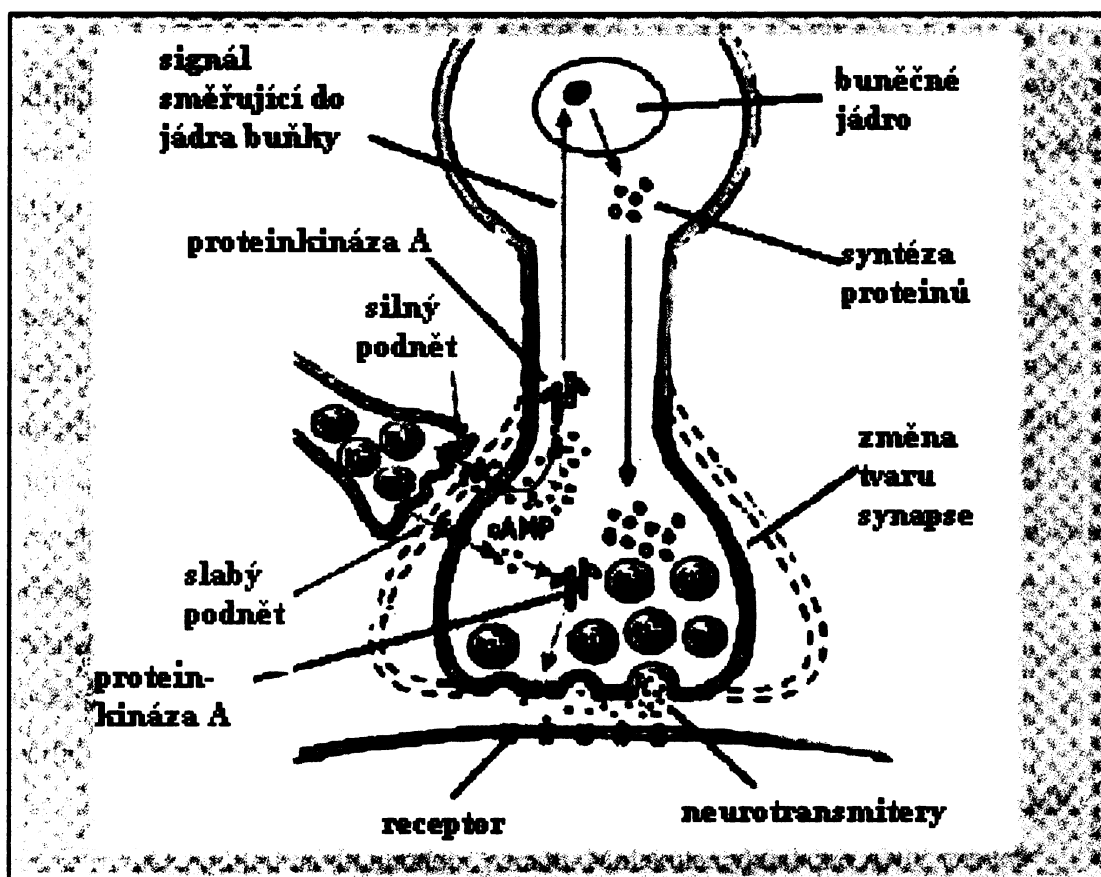
Pro studování procesů paměti je ideálním modelem mořský měkkýš zej kalifornský (*Aplysia californica*). Běžně se pro něj používá název aplysie. Aplysie patří mezi několik zadožábřých druhů měkkýšů majících za srdcem jen jeden žaberní lupen, který mohou spolu s přívodní nálevkou zatáhnout. Tento obranný reflex, kvantitativně měřitelný fotobuňkou, využil Eric Kandel pro studium paměti. E. Kandel se zasloužil o významné objevy v procesech paměti a byl odměněn v roce 2000 Nobelovou cenou za medicínu a fyziologii (Kandel, 2000).

Nervový systém aplysie, uspořádaný do několika ganglií, netvoří sto miliard neuronů jako u člověka, ale pouhých dvacet tisíc. Některé neurony lze najít vždy na stejném místě ganglia a jejich výběžky propojují stále tytéž neurony a svaly. Nejdřív E. Kandel zjistil, že slabé elektrické či mechanické podněty (např. proud vody) v minutových intervalech vyvolávají stále slabší zatahovací reflex. Jako by si živočich uvědomoval, že nejde o nebezpečí a ochrana žaber není nutná. Zeslabení reflexu se nazývá habituace. Salva rychlých a silných podnětů naopak zatahovací reflex usnadňuje, protože evidentně signalizuje vážné nebezpečí. Oba jevy trvají desítky minut a jsou příkladem krátkodobé paměti. Jestliže ale byl aplysie drážděn silnými podněty po několik hodin či dnů, zesílení zatahovacího reflexu již nevymizí. Tento jev je projevem dlouhodobé paměti. Když Kandel z aplysie izoloval celý systém (tj. kožní receptor – gangliové nervové buňky – zatahovací sval), mohl studovat buněčné i molekulární mechanismy obou forem

paměti. Způsob, jak molekulární změny v synapsi mohou u aplyisie vyvolat krátkodobou a dlouhodobou paměť, ukazuje obrázek 8.

Nedávné studie týkající se molekulárních a buněčných základů učení a paměti nás přivádějí blíže k pochopení mechanismů synaptické plasticity a jejímu vztahu ke tvorbě paměti. E. Kandel v textu uvedeném k udělení Nobelovy ceny uvádí názor, že dlouhodobá paměť je podmíněna nejen transkripcí a expresí genů, ale i změnou (zvětšením) nervového zakončení neuronů účastnících se na procesech paměti. Na obrázku 8 je znázorněno uvolnění neurotransmiteru v důsledku krátkodobého (slabého) podnětu; dlouhodobý (silný) podnět vede k dlouhodobé paměti, která je provázena změnou tvaru synapse neboli plasticitou neuronu (viz Hynie a Klenerová, 2002; Hynie a Klenerová, 2007; Kandel, 2000; Klenerová a Hynie, 2002;).





Obrázek 8:

Schéma znázorňuje, jak molekulární změny na synapsi mohou vést ke změně neuronové plasticity u měkkýše aplysie (Chain et al., 1999).

Krátkodobá paměť může být vyvolána při slabém podnětu (tečkované šipky); tento podnět vede k fosforylaci iontových kanálů, které zvyšují uvolňování neurotransmiterů. K vyvolání dlouhodobé paměti je třeba silnějšího nebo déle trvajícího podnětu (silnější šipky). To způsobí zvýšení hladiny cyklického AMP a aktivaci proteinkinasy A. Po aktivaci dalších faktorů, např. CREB (cAMP response element binding protein), dochází k ovlivnění transkripce a následuje syntéza nových proteinů. Výsledkem mohou být změny ve tvaru a funkci synapse; účinnost synapse může být zvýšena a je uvolňováno více neurotransmiterů (viz Kandel, 2000) (převzato z Klenerová a Hynie, 2002).

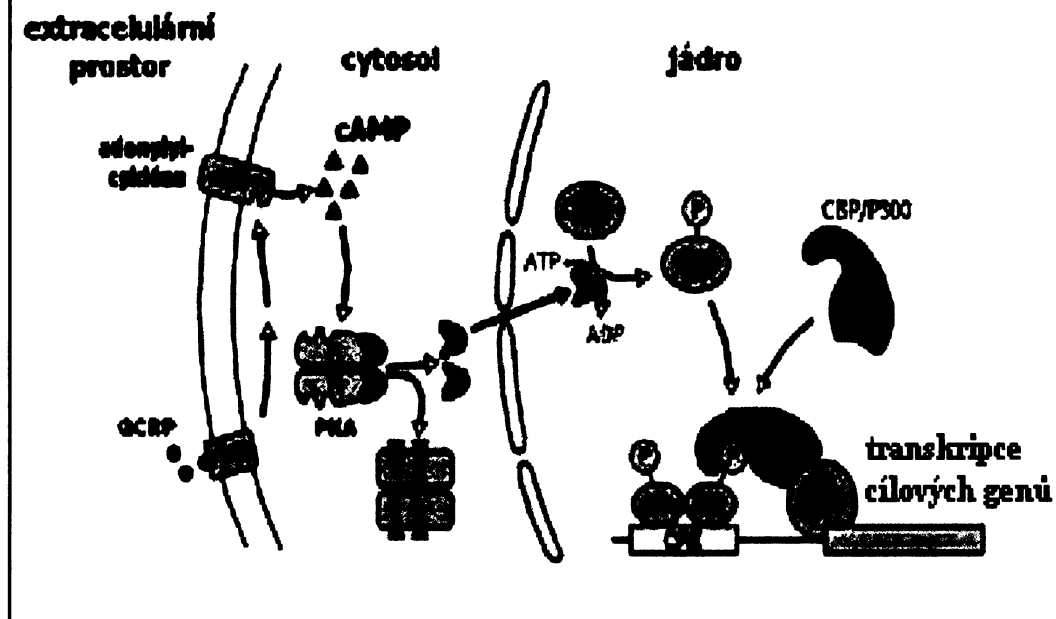
U měkkýše aplysie E. Kandel ukázal, že krátkodobá paměť vyžaduje kovalentní modifikaci (fosforylaci) už existujících synaptických proteinů (viz Chain et al., 1999). Dále se ukázalo, že konverze krátkodobé paměti na dlouhodobou paměť (konsolidace) vyžaduje syntézu nových proteinů (viz Kandel, 2000).

E. Kandel prokázal, že při dlouhodobé paměti se uplatňuje cAMP response element (CRE) (tzv. element odezvy), jehož transkripce je aktivována fosforylovaným transkripčním faktorem CREB (cyklický AMP response element binding protein) nebo jemu příbuznými látkami (viz Kandel, 2000; Klenerová a Hynie, 2002). Transkripční faktory jsou nutné pro zahájení transkripce. Jsou to regulační proteiny, které se váží na regulační oblasti promotoru nebo zesilovače transkripce a navozují zahájení transkripce. Transkripční faktory jsou na DNA rozpoznávány elementy odezvy, což jsou krátké sekvence DNA v oblasti promotorů a zesilovačů transkripce. Indukce aktivity transkripčních faktorů se uskutečňuje přes jejich fosforylaci a defosforylaci, vazbu specifického ligandu nebo uvolnění navázaného inhibitoru.

Obrázek 9 shrnuje nové poznatky o dlouhodobých účincích cyklického AMP, které se rovněž podílejí na dlouhodobé paměti. Molekula cyklického AMP vzniká při aktivaci adenylátcyklas z adenosintrifosfátu (ATP) za přítomnosti  $Mg^{2+}$ . Cyklický AMP aktivuje proteinkinasu A (PKA) a tím dochází k oddělení katalytických podjednotek z komplexu PKA a jejich transportu do jádra. Následnou fosforylací serinových zbytků CREB je tento transkripční faktor aktivován. PKA za pomoci dalších faktorů umožní vazbu CREB na CRE a tím transkripci cílových genů a jejich zvýšenou expresi (viz Kandel, 2000; Klenerová a Hynie, 2002). Aktivovaný CREB po vazbě na CRE začne přepisovat geny, jejichž proteinové produkty prodlouží působení PKA a aktivují další geny, které vyvolají růst nových synaptických spojení. Konečnou stabilizaci paměti tedy představuje růst nových synaptických spojení (viz Jedlička et al., 2001).

Mechanismy, které jsou zodpovědné za změny v synaptických funkcích, jsou středem kognitivních a emočních procesů u lidí (Silva et al., 2000). Proto lze předpokládat, že molekulární a buněčné poznatky o učení a paměti budou mít výrazný vliv na pochopení a léčbu psychiatrických poruch (viz Klenerová a Hynie, 2002).

## dlouhodobý účinek cAMP podmíněný vstupem PKA do jádra, fosforylací CREB a stimulací transkripce CRE



Obrázek 9:

Po uplatnění příslušných stimulů dochází v cytoplazmě buňky k tvorbě cAMP a tím k aktivaci proteinkinasy A (PKA). Uvolněné katalytické jednotky proteinkinasy A pronikají do buněčného jádra, kde vedou k fosforylaci transkripčních faktorů. Fosforylací se např. aktivuje cAMP response element binding protein (CREB), který za pomoci dalších faktorů umožní jeho vazbu na cAMP response element (CRE) a transkripci četných cílových genů. Následující zvýšená tvorba proteinů se uplatňuje při vzniku dlouhodobé paměti (převzato z Klenerová a Hynie, 2002).

## 4.4. Studie prováděné na animálních modelech

### 4.4.1. Testování vlivu oxytocinu na animálních modelech

Výzkum centrálních účinků oxytocinu za využití animálních modelů je velmi intenzivní. Přesvědčivé poznatky z animálního výzkumu naznačují, že intracerebrálně uvolňovaný oxytocin je zapojen do chování, které je podníceno čichovými signály a zdá se být spojeno s reprodukcí a sexuálním chováním (viz Kendrick, 2000; Young et al., 2001). Výzkum s hlodavci ukázal, že oxytocin a jemu strukturálně podobný vasopresin hrají důležitou úlohu při sociálních kontaktech. V severní Americe žije několik druhů hrabošů, kteří se navzájem odlišují sociálním chováním (Young et al., 1998; Insel a Young, 2001; Young, 2002). Préríjní hraboši posloužili v sofistikovaných pokusech jako důležitý zdroj informací o účincích oxytocinu v sociálním chování (viz Carter, 2003). Dospělí jedinci jsou monogamní, vytvářejí heterosexuální páry, žijí společně a plní společně rodičovské povinnosti v péči o potomstvo a uvádí se u nich celoživotní věrnost. Carterová porovnála tohoto hraboše s jeho příbuzným hrabošem horským., o kterém je známo, že neudrhuje monogamní párování a naopak vyhledává a střídá partnery. Ve srovnávací studii sledovala výskyt oxytocinových receptorů v mozku a hladiny oxytocinu v plazmě a další parametry. Préríjní hraboši vykazovali vysoké plazmatické hladiny oxytocinu a velké množství oxytocinových receptorů, především v nucleus accumbens, na rozdíl od horského hraboše, který má malé množství oxytocinových receptorů v jiných oblastech mozku (viz Klenerová a Hynie, 2008).

Mnohé studie na hlodavcích dokázaly, že farmakologické podání dávky oxytocinu zhoršuje paměť. Vedle studií, u kterých byl oxytocin podán intracerebroventrikulárně, studie endogenního oxytocinu ukázaly, že užitím antiséra proti oxytocinu dochází ke zlepšení konsolidace paměti a vybavování informací z paměti. Na druhé straně se zdá, že oxytocin u myši zlepšuje prostorovou paměť během mateřství. Shrnutím těchto dat docházíme k závěru, že současné animální studie ukazují, že oxytocin může být různě zapojen do paměti v závislosti na behaviorálním testu, podání nebo endogenní stimulaci tohoto peptidu a části mozku, kterou se studie zabývá. Navíc se zdá, že vliv oxytocinu na kognitivní funkce je závislý na dávce a času podání (viz Heinrich et al., 2004).

#### **4.4.2. Výzkum s linií myší s knokautovaným receptorem pro oxytocin**

Oxytocin hraje důležitou roli v mateřském chování a sociální paměti. Vedle farmakologických výzkumů centrálního vlivu oxytocinu na paměť pomocí agonistů a antagonistů receptoru pro oxytocin, byly znalosti účinků oxytocinu rozšířeny díky „knockout“ myším (myši s vyřazeným genem pro oxytocin). Myši s vyřazeným genem pro oxytocin nepoznaly po opakovaném sociálním setkávání známé subjekty, zatímco čichová a nesociální paměť se zdála být neporušená. Pozoruhodné je, že podání oxytocinu do amygdaly navrátilo těmto transgenním myším sociální paměť (Ferguson et al., 2002).

Protože se jeho receptory nacházejí v periferních tkáních a mozku, genový knokaut by tedy mohl být užitečný ke snížení počtu receptorů na specifických místech v určitém čase. Lee se spolupracovníky (2008) použili linii dvou typů myší s knokautovaným receptorem pro oxytocin. Jeden druh měl knokautovaný receptor pro oxytocin ve všech tkáních a druhý v předním mozku. Hlavní redukce počtu receptorů pro oxytocin byla provedena v laterálním septu, hipokampu a ventrálním pallidu. Ani u jednoho typu myší nebyly pozorovány žádné poruchy zdravotního stavu, senzomotorických funkcí, v příjmu cukru nebo úzkostlivé chování. Samičky obou typů myší vrhly mláďata, ale jen samičky s knokautovaným genem pro receptory oxytocinu v mozku nebyly schopny laktace. U sameček s knokautovaným genem pro receptor oxytocinu ve všech tkáních se projevilo narušení sociální paměti u známých samiček, zatímco samečci s knokautovaným genem pro oxytocin v mozku poznali jejich druh, ale ne konkrétní členy. Tato zjištění potvrzují důležitost receptorů pro oxytocin v sociálním rozpoznání a ukazují, že prostorová a časová inaktivace receptorů pro oxytocin umožní lepší pochopení jejich funkce a fyziologie chování (viz Lee et al., 2008).

#### **4.4.3. Inaktivace genu pro oxytocin a receptor 1b pro vasopresin vede k poškození efektu Bruceové u domácích myší**

Samice druhu *Mus musculus* (myš domácí) díky své velké reprodukční schopnosti, adaptabilitě a sociální organizaci patří k oblíbeným modelovým organismům pro studium čichové komunikace a fyziologie rozmnožování. Během období pohlavní aktivity (říje, estrus) dochází v těle samice k dozrávání a uvolňování (ovulaci) oocytů z vaječnicků a samice je připravená pářit se se samcem. Pokud k samici v rané fázi březosti

přidáme samce, se kterým se předtím nepářila, dojde k ukončení březosti a nástupu nového estru. Tento jev je známý pod názvem efekt Bruceové (Bielsky a Young, 2004).

Podle farmakologického a genetického výzkumu oxytocin a jemu příbuzný hormon vasopresin hrají roli v sociální paměti samců. U samic však těchto výzkumů bylo provedeno velmi málo. Wersinger se spolupracovníky (2008) provedli studii vlivu oxytocinu a receptorů pro vasopresin 1a a 1b na efekt Bruceové, tedy jevu závislému na čichové paměti. Samice rodu *Mus musculus* byla spárována se samcem a jejich chování bylo monitorováno. Samice s knokautovaným genem pro oxytocin nebo pro oba receptory pro vasopresin byly vystaveny jednomu z následujících případů: 1) po spárování byl sameček odebrán, 2) samička zůstala se samečkem po delší dobu bez přerušení, 3) po spárování byl sameček odebrán na 24 hodin, poté byl tentýž sameček opět přidán, 4) po 24 hodinách byl přidán jiný sameček. U 90-100% samic, které zůstaly samy nebo byly se samečkem bez přerušení, nedošlo k přerušení březosti. U samic s knokautovaným genem pro oxytocin došlo k přerušení březosti bez ohledu na to, zda byl po 24 hodinách přidán stejný nebo jiný sameček. U myši s knokautovaným genem pro receptory 1b pro vasopresin nedošlo k přerušení březosti v přítomnosti jiného samečka. U myši s knokautovaným genem pro receptor 1a pro vasopresin došlo k vyvolání efektu Bruceové. Tato zjištění vedou k závěru, že oxytocin i receptor 1b jsou zásadní pro vyvolání efektu Bruceové (viz Savaskan et al., 2008; Wersinger et al., 2008).

#### **4.4.4. Vliv derivátů oxytocinu na sociální rozpoznání u potkanů**

Oxytocin při farmakologickém podání zvířatům zeslabuje paměť a proto je považován za peptid s amnestickým účinkem. Tyto účinky byly nalezeny při testu vyhýbání (zvíře je trestáno po výskytu v jeho přirozeném prostředí) a sociálního rozpoznání (viz Popik a van Ree, 1991). Při sociálním rozpoznání je měřena délka trvání sociální interakce dospělého samčího potkana s mladším potkanem a redukce v době trvání následujícího setkání je používána jako index sociální paměti. Tato paměť se projeví, pokud interval mezi expozicemi trvá 30 a méně minut. Současnými testy sociálního rozpoznání bylo zjištěno, že zatímco vyšší farmakologické dávky oxytocinu zeslabují sociální rozpoznání, nižší fyziologické dávky tohoto peptidu usnadňují sociální rozpoznání. Podobné usnadňující účinky oxytocinu na sociální rozpoznání byly nalezeny při podání

relativně nízkých dávek injekčně do mediální preoptické oblasti hypotalamu u potkanů (viz Popik et al., 1996).

#### 4.4.5. Vztah struktura-aktivita oxytocinu

Podobné účinky jako je zeslabení či usnadnění paměti má i několik derivátů oxytocinu (de Wied et al., 1987). Popik se spolupracovníky (1996) provedli studii struktury a s ní úzce spjaté aktivity derivátů oxytocinu u sociálního rozpoznání, což je etologicky významný vzor, u kterého je možné zkoumat usnadnění i zeslabení paměti.

Byly použity dva testy s odlišnými postupy. První test, ve kterém byly použity vysoké dávky peptidů s 30 minutovými intervaly mezi expozicemi, umožnil sledování zeslabení sociálního poznání. Druhý test, u kterého byly aplikovány malé dávky peptidů se 120 minutovými intervaly mezi expozicemi, byl zaměřen na výzkum usnadnění sociálního poznání. V obou postupech byly testovány dvě dávky každého peptidu (viz Popik et al., 1996).

Získané výsledky ukazují, že zeslabení a usnadnění sociálního rozpoznání vlivem oxytocinu úzce souvisí s různými částmi jeho molekuly. Zeslabení způsobené vysokými dávkami oxytocinu se též projevilo u jeho derivátů s nebo bez C-terminální aminokyseliny glycinamidu. Zeslabení se projevilo u těchto látek: oxytocin-(1-9), oxytocin-(1-8), oxytocin-(7-9), oxytocin-(4-9) a oxytocin-(4-8), ale ne u oxytocinu-(8-9). Toto zjištění naznačuje, že část molekuly oxytocinu 5-7 je zvláště důležitá pro tento vliv. Usnadnění, které bylo způsobeno nízkými dávkami oxytocinu, bylo vyvoláno jen těmito peptidy s C-terminální aminokyselinou glycinamidem: oxytocin-(1-9), oxytocin-(7-9) a oxytocin-(8-9). Část zodpovědná za účinek usnadnění může být v oblasti 8-9 molekuly oxytocinu, ačkoli zůstává nejasné proč oxytocin-(4-9) nebyl v tomto směru aktivní. Kontrolní testy ukázaly, že vysoké dávky oxytocinu neusnadnily sociální rozpoznání. Po podání vysoké dávky oxytocinu-(7-9) s časovým intervalem mezi expozicemi 120 minut nebylo usnadněno sociální rozpoznání. Usnadnění sociálního rozpoznání je tedy omezeno na nízké dávky peptidů (nanogramy na kilogram) (viz Popik et al., 1996).

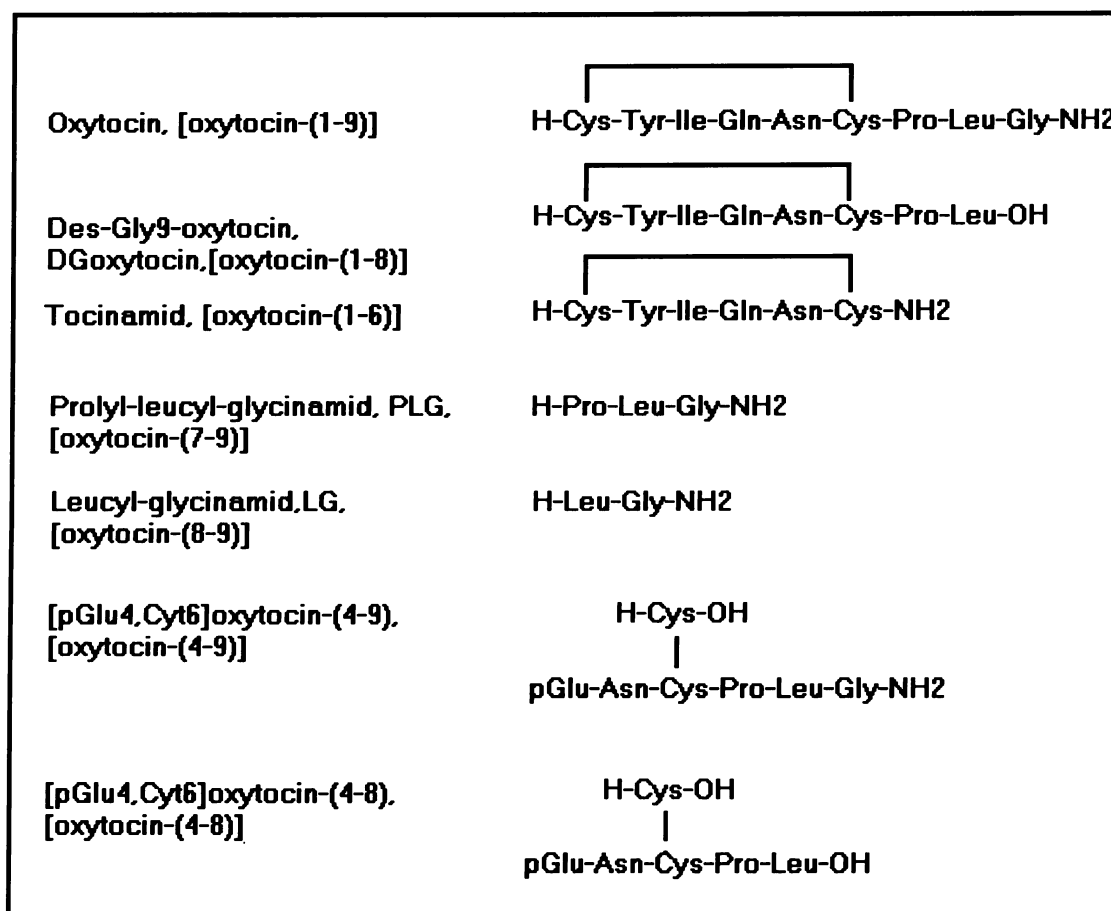
Zeslabující účinky derivátů oxytocinu byly zkoumány testem na vyhýbací reakce. Studium aktivity související se strukturou ukázalo, že peptidy [pGlu<sup>4</sup>,Cyt<sup>6</sup>]-oxytocin-(4-6) a [pGlu<sup>4</sup>,Cyt<sup>6</sup>]-oxytocin-(4-9) jsou v tomto ohledu aktivní (de Wied et al., 1987). Tato

zjištění dokazují, že tyto peptidy zeslabují sociální rozpoznání. Mnoho těchto peptidů může pravděpodobně vznikat z oxytocinu enzymatickými procesy (viz Popik et al., 1996).

Do procesů paměti mohou být také zapojeny malé deriváty oxytocinu. U mnoha studií byl použit tripeptid s C-koncem prolyl-leucyl-glycinamid (PLG, oxytocin-(7-9)), který je také nazýván MSH (melanocyt stimulující hormon). Walter se spolupracovníky (1975) ve své studii prokázali, že několik derivátů oxytocinu s C-koncem, včetně PLG a leucyl-glycinamidu (LG, oxytocin-(8-9)), zeslabují puromycinem indukovanou amnézii u myši. U PLG a některých derivátů byly také nalezeny zeslabující účinky na paměť. PLG například usnadňuje vyhasínání podmíněné nechuti k jídlu (viz Rigter a Popping, 1976). S ohledem na efektivitu působení malých dávek PLG a LG usnadnění sociálního rozpoznání lze říci, že tyto strukturálně blízké peptidy jsou zapojeny do fyziologie procesů paměti. Navíc studie dokazuje, že usnadnění a zeslabení sociální paměti vlivem derivátů oxytocinu je zprostředkováno rozdílnými mechanismy a rozdílným systémem receptorů (viz Popik et al., 1996). Struktura některých derivátů oxytocinu je znázorněna na obrázku 10.

Řada analogů oxytocinu byla navržena k použití jako terapeutická náhražka oxytocinu v jeho periferních indikacích. Jedním z nich je karbetocin (1-butanoic acid-2-(O-methyl-L-tyrosine)-1-carbaoxytocin, který vykazuje uterotonické a laktační účinky (viz Klenerová a Hynie, 2008).





Obrázek 10:

Struktura oxytocinu a některých jeho derivátů. Podobné účinky na paměť jako oxytocin mají i některé jeho deriváty. Ze studií vlivu některých derivátů oxytocinu na paměť lze zjistit, jaké části molekuly oxytocinu souvisí s těmito účinky. Výzkum derivátů oxytocinu je prováděn za účelem nalezení jejich využití v terapii některých poruch kognitivních funkcí.

## 4.5. Studie prováděné na člověku

### 4.5.1. Testování vlivu oxytocinu na lidskou paměť

Lidská paměť je rozdělena do dvou kategorií - implicitní a explicitní paměť (viz Klenerová a Hynie, 2002; Koukolík, 2008). Důležitým pojmem pro testování paměti je vybavování neboli získání informace z paměti. Vybavování se skládá z vyvolání a rozpoznávání. Vyvolání umožňuje znovu získat z paměti již uloženou informaci i bez zevní prezentace informace. Rozpoznávání umožňuje rovněž získat z paměti uloženou informaci, ale musí být přítomna zevní prezentace této informace (viz Rodriguez a Mohr, 2004). Zatímco test na explicitní paměť vyžaduje předměty k vybavení si dříve nastudovaných položek, implicitní test neuvádí k nastudování příběh a měří paměť nezávisle na usnadnění výkonu ve zdánlivě nesouvisejících úlohách. Toto usnadnění je známo pod pojmem priming. Přímé testování paměti zaměřené na vyvolání a rozpoznávání se používá k měření explicitní paměti, zatímco nepřímé testování paměti, jako je doplňování slovních kmenů, se používá k měření implicitní paměti. Testování implicitní paměti může být dále děleno na percepční a koncepční testy. Zatímco podněty v percepčním testu mají percepční vztah k jejich studovanými položkami (např. din- pro dinosaurus v doplňování slovních kmenů), podněty v koncepčním testu mají koncepční nebo významový vztah (např. plaz v asociačním doplnění do kategorií). Rozdíl ve výsledcích implicitních a explicitních testů je podložen mnohými zjištěními při provedení testů odděleně za implicitních a explicitních podmínek. Například pacient trpící amnesií je velmi špatný v explicitním testu, zatímco v implicitním testu je úspěšný (viz Heinrichs et al., 2004).

K testování vlivu oxytocinu na paměť je vhodná jednoduše nebo dvojitě slepá studie s kontrolou účinků placebo. Ve dvojitě slepé studii subjekt hodnocení ani zkoušející nevědí, jaká látka je subjektu podána. Pokud tato informace není známa pouze subjektu hodnocení, jde o jednoduše slepou studii.

Důležitou roli hraje způsob podání dávky oxytocinu.

Z neurofarmakologických výzkumů je známo, že mnoho drah v mozku prochází přes hematoencefalickou bariéru, která významně omezuje přestup většiny látek z krve

do intersticiální tekutiny mozku. Při intranazálním, cerebrospinálním a intravenózním podání se oxytocin dostává úspěšně do mozku.

#### **4.5.2. Selektivní amnestické účinky oxytocinu na lidskou paměť**

Heinrichs se spolupracovníky (2004) provedli studii vlivu oxytocinu na implicitní a explicitní lidskou paměť po intranazálním podání jediné dávky oxytocinu. V této dvojité slepé studii, prováděné současně s placebem, byla 38 letému zdravému muži náhodně podána dávka oxytocinu nebo placebo 50 minut před testováním. Paměť byla měřena použitím tří odlišných testů na paměť: implicitní percepční test (doplnění slovních kmenů), implicitní koncepční-pojmový test (sémantická-významová asociace) a explicitní test. Z důvodu reprodukční funkce oxytocinu byl použit jako stimul reprodukční význam slova vs. neutrálním význam. S porovnáním podání placebo oxytocin významně zhoršil vyvolání informace z paměti nezávisle na významu slov. V implicitním percepčním testu, který se vyznačuje hlubším zpracováním informací, oxytocin s porovnáním s placebem významně zhoršil jen celkovou tvorbu cílových slov s reprodukčním významem, zatímco pro slova s neutrálním významem nebyl nalezen žádný významný rozdíl mezi oxytocinem a placebem. Tato zjištění se shodují s daty z animálního výzkumu, který naznačuje, že centrální oxytocin selektivně ovlivňuje paměť závisle na testu zaměřujícího se na určitý druh paměti a, což je více důležité, závisle na psycho-biologickém významu stimulu (viz Heinrichs et al., 2004).

V této studii byl oxytocin podán intranazálně, aby mohl přímo vstoupit do mozkomíšního moku a obejít krevní řečiště. Použitím řady testů zaměřených na různé druhy paměti, zahrnujících implicitní a explicitní paměť, lze obejít omezení na jednorozměrné zkoumání paměti (viz Heinrichs et al., 2004).

Tyto účinky oxytocinu po intranazálním podání naznačují, že centrální oxytocin u lidí selektivně ovlivňuje paměť v závislosti na druhu testu (zaměřujícího se na určitý druh paměti) a na významu stimulu. Oxytocin zhoršil paměť u vyvolání nastudovaných slov při testu zaměřeném na vyvolání, který byl porovnán se skupinou, které bylo podáno placebo. Nicméně zhoršení schopnosti vyvolání nesouviselo s významem slov, neboť významově neutrální slova a slova s reprodukčním významem byla oxytocinem stejně ovlivněna. V implicitním koncepčním testu zaměřeném na asociaci v rozdílných kategoriích významů slov, oxytocin s porovnáním s placebem významně zhoršil jen

celkovou tvorbu slov s reprodukčním významem, zatímco u slov s neutrálním významem nebyl nalezen žádný výrazný rozdíl mezi oxytocinem a placebem. Tato zjištění vedou k závěru, že intranazálně podaný oxytocin selektivně zhoršuje sémantickou implicitní paměť závisle na významu slov pokud je u zkoumaného subjektu požadováno provedení do větší hloubky. Centrální nervové účinky oxytocinu se mění závisle na typu testu zaměřujícího se na určitý druh paměti, zatímco strach, nálada a nabuzení nebyly nijak výrazně ovlivněny. Nebyl nalezen žádný důkaz, který by naznačoval, že kognitivní vliv tohoto neuropeptidu klesá v závislosti na dávce. Současná data potvrzují a rozšiřují předešlá zjištění o kognitivních účincích oxytocinu z animálního výzkumu (viz Heinrichs et al., 2004).

Zatímco vliv oxytocinu na paměť je velice aktivně zkoumán u zvířat, výzkum na lidech je relativně omezen. Kromě toho malá část studií, které byly na člověku provedeny přinesly nejasné výsledky. U malého vzorku lidí (čtyři muži a dvě ženy) byly zjištěny amnestické účinky intranazálně podaného oxytocinu na paměť (viz Ferrier et al., 1980). Jiné studie s intravenózním a intranazálním podáním oxytocinu nebyly schopny dokázat žádné účinky na paměť (viz Fehm-Wolfsdorf et al., 1984; Fehm-Wolfsdorf et al., 1988; Geenen et al., 1988). Celkově vzato existuje málo dostupných studií, které je těžké porovnat. To je dáno různorodostí experimentálních metod, které zahrnují rozdílné podněty, testy paměti nebo rozdíly v dávce, způsobu a času podání látky.

Bylo zjištěno, že myši s vyřazeným genem pro oxytocin, nepoznaly po opakovaném sociálním setkávání známé subjekty, zatímco čichová a nesociální paměť se zdála být neporušená. Následné podání oxytocinu do amygdaly navrátilo myším sociální paměť (viz Ferguson et al., 2002). V souladu s tímto silným účinkem oxytocinu u zvířat Heinrichs se spolupracovníky (2004) ukázali, že intranazálně podaný oxytocin mužům významně zvyšuje vyrovnaní subjektivních odpovědí na stres zvyšujícím se klidem a snižujícím se strachem. To je přičítáno i zvýšené hladině kortisolu. Tato očividně protichůdná zjištění o zhoršení kognitivních funkcí a zlepšení sociální paměti mohou být spojena se specifickými účinky tohoto neuropeptidu v různých částech mozku, včetně odlišné citlivosti receptorů závisle na významnosti podmínek. Budoucí studie na lidech a zvířatech by měly prozkoumat roli oxytocinu ve vztahu mezi sociálním chováním a paměťových procesech.

Zajímavé je, že některé studie na člověku zaznamenaly časové zhoršení paměti u žen během těhotenství a poporodní doby (viz Silber et al., 1990; Brindle et al., 1991; Sharp et al., 1993; Keenan et al., 1998; Brett a Baxendale, 2001). Vzhledem k těmto zjištěním krátkodobé amnestické účinky centrálního oxytocinu mohou mít důležitou biologickou funkci před a po porodu, z důvodu inhibice nepříjemných zážitků během porodu. Účinky oxytocinu na paměť týkající se reprodukce u mužů nebyly dosud vyšetřeny. Další zjištění napovídají, že jedna dávka oxytocinu podaná intranazálně selektivně inhibuje implicitní vyvolání slov se sexuálním a mateřským významem (viz Heinrichs et al., 2004). Po podání dávky oxytocinu zkoumaným subjektů došlo ke zhoršení vyvolání studovaných a jim odpovídajících nestudovaných slov s reprodukčním významem. Tato skutečnost naznačuje, že oxytocin značně ovlivňuje všechna cílová slova s blízkou sémantickou asociací s reprodukčním významem (viz Heinrichs et al., 2004). Pravděpodobně existují specifické rozdíly u pohlaví v kognitivním prohloubeném zpracování informací s reprodukčním významem, což souvisí s evoluční rolí těchto informací. Stojí za zmínku, že nejvyšší hladina oxytocinu byla nalezena při orgasmu u mužů (viz Murphy et al., 1990).

Rozhodující analýza současné znalosti účinků oxytocinu na chování u lidí indikuje potřebu dalšího výzkumu role tohoto peptidu v nervové komunikaci, která je zásadní pro učení a paměť. Zajímavé je, že některé studie přinesly změny oxytocinu v mozku v degenerativních neurologických poruchách, ve kterých je narušení paměti klinickým charakteristickým znakem. Například byla nalezena vyšší koncentrace oxytocinu po smrti v mozkové tkáni hipokampu a spánkového laloku z histologicky potvrzených případů Alzheimerovy choroby (viz Mazurek et al., 1987). Ačkoli zde pravděpodobně není žádná příčinná souvislost mezi oxytocinem a Alzheimerovou chorobou, výzkum by se měl zabývat rolí oxytocinu v amnestických chorobách.

#### **4.5.3. Oxytocin ovlivňuje lidskou paměť na tváře**

Je známo, že oxytocin moduluje agresi, strach, sociální chování a kognitivní funkce. Málo je známo o jeho vlivu na emoční paměť. Savaskan se spolupracovníky (2008) provedli „jednoduše slepou“ studii, ve které zkoumali krátkodobý a dlouhodobý efekt jediné dávky oxytocinu podané intranazálně na paměť na tváře a výraz v obličeji. Studie byla provedena u 36 zdravých mladých žen a mužů pomocí testu s portréty tváří. V první

fázi testu bylo dobrovolníkům představeno 60 různých portrétů tváří se šťastným, rozzlobeným a neutrálním výrazem. Za 24 hodin a 30 minut po podání oxytocinu byl proveden test pouze s použitím tváří s neutrálním výrazem. Oxytocin zlepšil paměť na tváře s neutrálním a rozzlobeným výrazem nezávisle na pohlaví účastníků, zatímco u šťastných tváří tento efekt nebyl pozorován. Subjekty, kterým byla podána dávka oxytocinu měly menší zaujetí k hodnocení nových tváří na rozdíl od tváří již viděných a neprojevil se u nich žádný vliv na paměť týkající se výrazů v obličeji. Díky těmto účinkům může oxytocin přispívat k modulování sociálního chování (viz Savaskan et al., 2008; Wersinger et al., 2008)..

## 5. Souhrn

V souladu s cílem této bakalářské práce jsem na základě studia odborné literatury a vědecké práce mých školitelů zjistila, že oxytocin a jeho deriváty jsou významně zapojené do procesů učení a paměti. Z použitých pramenů jsem vytvořila databázi (EndNote library), která je v elektronické podobě k dispozici pro další studium.

- Oxytocin je důležitým regulačním faktorem v centrálním nervovém systému.
- Oxytocin hraje základní úlohu v různých aspektech učení a paměti.
- Při farmakologickém podání oxytocinu zvířatům dochází k zeslabení jejich paměti.
- Centrální oxytocin u lidí selektivně ovlivňuje paměť v závislosti na druhu testu a na významu stimulu.
- Intranazálně podaný oxytocin u lidí má selektivní amnestické účinky.
- Výzkumem vlivu derivátů oxytocinu na paměť lze objasnit, jaká část molekuly oxytocinu je zodpovědná za jeho centrální účinky na procesy paměti.

Nové experimentální přístupy, které odhalily významnost centrální regulační úlohy oxytocinu, naznačují, že studium účinků oxytocinu a jeho derivátů v procesech učení a paměti je velmi přínosné pro jejich využití v terapii některých poruch kognitivních funkcí.

## 6. Literatura

- [1] **Alberts B, Bray D, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, et al.** Základy buněčné biologie. Úvod do molekulární biologie buňky. Ústí nad Labem: Espero Publishing 1998.
- [2] **Bielsky IF, Young LJ.** Oxytocin, vasopressin, and social recognition in mammals *Peptides*. 2004; 25(9):1565-74.
- [3] **Bockaert J, Pin JP.** Molecular tinkering of G protein-coupled receptors: an evolutionary success *EMBO J*. 1999; 18(7):1723-9.
- [4] **Brett M, Baxendale S.** Motherhood and memory: a review *Psychoneuroendocrinology*. 2001; 26(4):339-62.
- [5] **Brindle PM, Brown MW, Brown J, Griffith HB, Turner GM.** Objective and subjective memory impairment in pregnancy *Psychol Med*. 1991; 21(3):647-53.
- [6] **Carter CS.** Developmental consequences of oxytocin *Physiology & behavior*. 2003; 79(3):383-97.
- [7] **de Wied D, Gaffori O, Burbach JP, Kovacs GL, van Ree JM.** Structure activity relationship studies with C-terminal fragments of vasopressin and oxytocin on avoidance behaviors of rats *J Pharmacol Exp Ther*. 1987; 241(1):268-74.
- [8] **Du Vigneaud V.** A trail of sulfa research: from insulin to oxytocin *Nobel Lecture*. 1955:447-64.
- [9] **Fehm-Wolfsdorf G, Born J, Voigt KH, Fehm HL.** Human memory and neurohypophyseal hormones: opposite effects of vasopressin and oxytocin *Psychoneuroendocrinology*. 1984; 9(3):285-92.
- [10] **Fehm-Wolfsdorf G, Bachholz G, Born J, Voigt K, Fehm HL.** Vasopressin but not oxytocin enhances cortical arousal: an integrative hypothesis on behavioral effects of neurohypophyseal hormones *Psychopharmacology*. 1988; 94(4):496-500.
- [11] **Ferguson JN, Young LJ, Insel TR.** The neuroendocrine basis of social recognition *Front Neuroendocrinol*. 2002; 23(2):200-24.
- [12] **Ferrier BM, Kennett DJ, Devlin MC.** Influence of oxytocin on human memory processes *Life Sci*. 1980; 27(24):2311-7.
- [13] **Geenen V, Adam F, Baro V, Mantanus H, Anseau M, Timsit-Berthier M, et al.** Inhibitory influence of oxytocin infusion on contingent negative variation and some memory tasks in normal men *Psychoneuroendocrinology*. 1988; 13(5):367-75.



- [14] **Gimpl G, Fahrenholz F.** The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation *Physiol Rev.* 2001; 81(2):629-83.
- [15] **Hanč O, Pádr Z.** Hormony. Úvod do jejich chemie a biologie. Praha: nakladatelství Československé akademie věd 1982.
- [16] **Heinrichs M, Meinschmidt G, Wippich W, Ehlert U, Hellhammer DH.** Selective amnesic effects of oxytocin on human memory *Physiology & behavior.* 2004; 83(1):31-8.
- [17] **Hynie S, Klenerová V.** Nové pohledy na účinky cAMP včetně jeho dlouhodobých účinků a významu při hledání nových psychofarmak *Psychiatrie.* 2002; 6(3):13-8.
- [18] **Hynie S, Klenerová V.** Existuje společný regulační mechanismus účastníci se při vzniku deprese, schizofrenie a závislosti na návykových látkách? *Čs fyziologie.* 2007; 56(3):90-6.
- [19] **Hynie S, Klenerová V.** Centrální regulační úloha oxytocinu *Psychiatrie.* 2008; 12(2).
- [20] **Chain DG, Casadio A, Schacher S, Hegde AN, Valbrun M, Yamamoto N, et al.** Mechanisms for generating the autonomous cAMP-dependent protein kinase required for long-term facilitation in *Aplysia Neuron.* 1999; 22(1):147-56.
- [21] **Insel TR, Young LJ.** The neurobiology of attachment *Nat rev.* 2001; 2(2):129-36.
- [22] **Jedlička P, Beňušková L, Mačáková J, Ostatníková D.** Molekulové mechanismy učení a paměti *Psychiatria.* 2001:1183-99.
- [23] **Kandel E.** The molecular biology of memory storage: a dialog between genes and synapses *Nobel lecture.* 2000:392-439.
- [24] **Keenan PA, Yaloo DT, Stress ME, Fuerst DR, Ginsburg KA.** Explicit memory in pregnant women *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 179(3 Pt 1):731-7.
- [25] **Kendrick KM.** Oxytocin, motherhood and bonding *Exp Physiol.* 2000; 85 Spec No:111S-24S.
- [26] **Klenerová V, Hynie S.** Stres, paměť a návykové látky - účastníci se mechanismy *Psychiatrie.* 2002; 6(3):21-7.
- [27] **Klenerová V, Hynie S.** Stres, paměť a návykové látky - účastníci se mechanismy *Psychiatrie.* 2002; 6(3):21-7.
- [28] **Klenerová V, Hynie S.** Existuje vztah mezi stresem, pamětí a silnými emocemi, jako jsou obavy a strach? *Čs fyziologie.* 2007; 56(3):97-104.
- [29] **Koukolík F.** Paměť a její poruchy *Praktický lékař.* 2008; 88(2):84-9.

- [30] **Lee HJ, Caldwell HK, Macbeth AH, Tolu SG, Young WS, 3rd.** A Conditional Knockout Mouse Line of the Oxytocin Receptor *Endocrinology*. 2008.
- [31] **Marsalová A, Práznovská L, Heretik A, Alakša D.** Poruchy pamati u pacientov so schizofréniou *Psychiatrie pro praxi*. 2002; 6:256-8.
- [32] **Mazurek MF, Beal MF, Bird ED, Martin JB.** Oxytocin in Alzheimer's disease: postmortem brain levels *Neurology*. 1987; 37(6):1001-3.
- [33] **Murphy MR, Checkley SA, Seckl JR, Lightman SL.** Naloxone inhibits oxytocin release at orgasm in man *J Clin Endocrinol Metab*. 1990; 71(4):1056-8.
- [34] **Pocock G, Richards CD.** Human Physiology. The Basis of Medicine: Great Britain, Oxford University Press 2006.
- [35] **Popik P, van Ree JM.** Oxytocin but not vasopressin facilitates social recognition following injection into the medial preoptic area of the rat brain *Eur Neuropsychopharmacol*. 1991; 1(4):555-60.
- [36] **Popik P, Vetulani J, Van Ree JM.** Facilitation and attenuation of social recognition in rats by different oxytocin-related peptides *Eur J Pharmacol*. 1996; 308(2):113-6.
- [37] **Rigter H, Popping A.** Hormonal influences of the extinction of conditioned taste aversion *Psychopharmacologia*. 1976; 46(3):255-61.
- [38] **Rodriguez M, Mohr P.** Paměť a schizofrenie *Psychiatrie pro praxi*. 2004; 3:118-22.
- [39] **Rusina R.** Paměť a její poruchy *Neurologie pro praxi*. 2004; 4:205-7.
- [40] **Savaskan E, Ehrhardt R, Schulz A, Walter M, Schachinger H.** Post-learning intranasal oxytocin modulates human memory for facial identity *Psychoneuroendocrinology*. 2008; 33(3):368-74.
- [41] **Sharp K, Brindle PM, Brown MW, Turner GM.** Memory loss during pregnancy *Br J Obstet Gynaecol*. 1993; 100(3):209-15.
- [42] **Silber M, Almkvist O, Larsson B, Uvnas-Moberg K.** Temporary peripartal impairment in memory and attention and its possible relation to oxytocin concentration *Life Sci*. 1990; 47(1):57-65.
- [43] **Silva AJ, Elgersma Y, Costa RM.** Molecular and cellular mechanisms of cognitive function: implications for psychiatric disorders *Biol psychiatry*. 2000; 47(3):200-9.
- [44] **Stárka L.** Hormony a láska *Chem Listy*. 2007; 101:13-7.

- [45] **Strunecká A, Patočka J.** Průvodce na cestu po fosfoinozimidové dráze *Psychiatrie*. 2006; 10(2):1-5.
- [46] **Talarovicova A, Krskova L, Kiss A.** Some assessments of the amygdala role in suprahypothalamic neuroendocrine regulation: a minireview *Endocr Regul*. 2007; 41(4):155-62.
- [47] **Thompson RF, Kim JJ.** Memory systems in the brain and localization of a memory *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1996; 93(24):13438-44.
- [48] **Wersinger SR, Temple JL, Caldwell HK, Young WS, 3rd.** Inactivation of the oxytocin and the vasopressin (Avp) 1b receptor genes, but not the Avp 1a receptor gene, differentially impairs the Bruce effect in laboratory mice (*Mus musculus*) *Endocrinology*. 2008; 149(1):116-21.
- [49] **Young LJ.** The neurobiology of social recognition, approach, and avoidance *Biol psychiatry*. 2002; 51(1):18-26.
- [50] **Young LJ, Wang Z, Insel TR.** Neuroendocrine bases of monogamy *Trends in neurosciences*. 1998; 21(2):71-5.
- [51] **Young LJ, Lim MM, Gingrich B, Insel TR.** Cellular mechanisms of social attachment *Horm Behav*. 2001; 40(2):133-8.

Svoluji k zapůjčení této práce pro studijní účely a prosím, aby byla řádně vedena evidence vypůjčovatelů.

<b>Jméno a příjmení</b>	<b>Adresa</b>	<b>Číslo OP</b>	<b>Datum vypůjčení</b>	<b>Poznámka</b>