Role dopaminergní a serotonergní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie

MUDr. Tomáš Páleníček

obor postgraduálního studia: neurovědy

Poděkování

Rád bych poděkoval Psychiatrickému centru Praha, na jehož pracovišti jsem se mohl disertační práci věnovat, Centru neuropsychiatrických studií a projektům NR-8785-3 a NJ-7663-3 Interní grantové agentury ministerstva zdravotnictví ČR, ze kterých byla financována většina mé práce.

Dále bych chtěl poděkovat svému školiteli Prof. MUDr. Cyrilu Höschlovi, DrSc., FRCPsych, odborným konzultantům Doc. MUDr. Jiřímu Horáčkovi, PhD., a Doc. MUDr. Františku Šťastnému, CSc a vedoucímu laboratoře RNDr. Daniele Řípová, CSc. za jejich podporu a pomoc při řešení této práce.

Dále bych rád poděkoval spolupracovnicím z laboratoře, RNDr. Věře Valešové, PhD a Mgr. Monice Vrajové a všem laborantkám a dalšímu technickému personálu z naší laboratoře za jejich pomoc při provádění experimentů a sepisování publikací.

Obsah

Poděkování.....2

Obsah.....3

I. Úvod.....6

II. Struktura a cíle doktorské práce – shrnutí.....8

III. Neurobiologie schizofrenie.....9

III. A) Genetika schizofrenie.....9

III. B) Neurochemické mechanismy schizofrenie.....11

III.C) Morfologické a funkční nálezy u schizofrenie.....14

IV. Animální modely schizofrenie.....16

IV. A) Farmakologické modely.....18

IV. B) Genetické a neurovývojové modely.....20

V. Cíle.....21

VI. Použité metodiky.....22

V. A) Zvířata.....22

V. B) Použité farmakologické modely.....22

V. C) Ethovision – analýza lokomoce.....23

V. D) Test otevřeného pole – open field.....23

V. E) Prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR).....23

V. F) hodnocení elektrické aktivity mozku pomocí kvantitativního EEG.....24

V. G) Biochemické analýzy.....26

VII. Shrnutí výsledků a komentář publikací.....27

VII. ad1) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska lokomočního chování.....27

VII. ad2) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska chování v testu otevřeného pole.....29

VII. Ad3) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení prepulzní inhibice úlekové reakce.....33

VII. Ad4) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení kvantitativního EEG.....36

VII. Ad5) Za pomoci selektivních ligandů receptorů a antipsychotik srovnání role různých serotoninových a dopaminových receptorů v mechanizmu změn zjištěných v námi použitých animálních modelech psychóz.....43

VIII. Shrnutí výsledků disertační práce.....50

IX. Závěr.....52

X. Seznam publikací s IF.....56

XI. Reference.....58

XII. Seznam příloh č.1.....73

XIII. Seznam příloh č.2.....75

Poznámka: Součástí této disertace jsou přílohy publikací publikovaných v zahraničních a českých recenzovaných časopisech

Příloha č. 1A – O

publikace in extenzo vztahující se přímo k tématu práce jejichž výsledky jsou okomentovány a shrnuty v kapitole VII a VIII.

Příloha č. 2A – J

ostatní publikace související s tématem

I. Úvod

Schizofrenie je specificky lidské závažné onemocnění s prevalencí 0,5-1% v populaci nad 18 let (http://www.nimh.nih.gov). Typicky začíná onemocnění schizofrenií v adolescenci a v časné dospělosti. Průměrný věk prvních známek duševního onemocnění je 24 let u mužů a 27 let u žen. Schizofrenie významně snižuje kvalitu života postižených, často vede až k invalidizaci. Řada nemocných schizofrenií se alespoň jednou v životě pokusí o suicidium. Díky všem těmto aspektům a nákladům na léčbu je schizofrenie významnou socioekonomickou zátěží společnosti (Höschl et al. 2004).

Schizofrenie je heterogenní onemocnění charakterizované čtyřmi základními skupinami symptomů – pozitivními, negativními, kognitivními a afektivními. Mezi pozitivní symptomy patří zejména halucinace, bludy, či nejrůznější stereotypie, dezorganizované myšlení a chování apod., mezi negativní pak abulie, alogie, sociální a citové stažení; dále bývá přítomen různě velký deficit kognitivních funkcí (pozornost, paměť, abstrakce) a porucha afektivity jako je rozvoj depresivních příznaků a suicidálních ideací. Pro diagnostiku schizofrenie je nezbytné splnění diagnostických kriterií, která jsou uvedena jak v ICD 10 (International Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th revision /Mezinárodní klasifikace nemocí a asociovaných zdravotních problémů, 10. revize) tak v diagnostickém a statistickém manuálu Americké psychiatrické asociace DSM IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition) a.

Jednoznačnou etiologii schizofrenního onemocnění doposud neznáme. Zatím se předpokládá multifaktoriální etiologie a vliv mnohočetných patogenetických vlivů. Nejčastěji jsou zmiňovány následující faktory, které mohou sehrát roli při rozvoji tohoto onemocnění: drobné postižení centrální nervové soustavy, ke kterému dochází pravděpodobně v průběhu perinatálního nebo časného postnatálního vývoje (perinatální hypoxie, virový infekt, vliv toxické noxy apod.[1]), genetická predispozice (vulnerabilita) a zátěž (stres – psychologické a sociální faktory) v průběhu života jedince. Z hlediska neurobiologického se o schizofrenii hovoří jako o diskonekčním syndromu (Friston 1998), při kterém je narušena funkční konektivita mezi různými oblastmi CNS, nejčastěji je zmiňována diskonekce fronto-temporální, interhemisferální a diskonekcce podkorových struktur a kortexu. Nejčastěji studovanými oblastmi, u kterých je opakovaně nalézána jejich dysfunkce, jsou oblasti

[1] Neurotoxické působení může interferovat s neurogenezí, synaptogenezí a migrací neuronů, čehož důsledkem může být diskonekce

limbického systému (cingulum, hipokampus), oblasti prefrontálního kortexu, dále pak temporální a parietální asociační oblasti, oblasti striata a jeho projekcí (mezolimbické a mezkortikální), důležitá je role hypotalamu a v neposlední řadě i bílé hmoty. Z neurochemického pohledu je schizofrenie vnímána především jako dysfunkce systémů glutamátergního, dopaminergního a serotonergního.

Interakce uvedených systémů a jejich role v patogeneze schizofrenie stále nejsou dostatečně probádány. Tato práce, studující roli dopaminu a serotoninu v animálních modelech, má přispět k jejich poznání.

II. Struktura a cíle doktorské práce – shrnutí

Cílem doktorské práce bylo studovat roli serotonergní a dopaminergní neurotrasmise v animálních farmakologických modelech schizofrenie. Zvolenými experimentálními subjekty byli potkani kmene Wistar. Hodnotily se změny v chování a elektrické aktivitě mozku potkana v jednotlivých modelech psychóz.

Práce je členěna do kapitol. V úvodních kapitolách je pojednáno o neurobiologii schizofrenního onemocnění a jsou uvedeny hypotézy, které se snaží popsat etiologii a neurobiochemický podklad tohoto onemocnění. Dále jsou popsány animální modely psychóz se zaměřením především na námi použité farmakologické modely. V další části práce je shrnuta metodika experimentů, které jsme prováděli. Následují specifické cíle práce a v poslední části jsou komentovány publikace, které jsou hlavním výstupem doktorského studia. Současně jsou prezentovány některé další výsledky z našich experimentů, které jsou připraveny pro publikaci v odborných periodicích. V závěru práce jsou výsledky všech experimentů přehledně shrnuty ve vztahu k cílům práce. Součástí textu je rovněž seznam použité literatury a v příloze vlastní odborné publikace.

III. Neurobiologie schizofrenie

A) Genetika schizofrenie

Dědičnost je u schizofrenie podmíněna nejspíše polygenně. Proměnlivost projevů schizofrenie je výsledkem proměnlivosti genotypu i změny prostředí. Faktory prostředí vysvětlují vznik schizofrenie asi z 20-50 % a mají vliv především na regulaci genetické exprese. Vzhledem k nízké penetranci genů a nutnosti interakce s dalšími rizikovými faktory lze říci, že je schizofrenie sice geneticky podmíněná, ale nikoliv geneticky determinovaná duševní porucha (Riley and Kendler 2006). Pro dědičnost schizofrenie svědčí jak studie v rodinách schizofrenních pacientů, kde je výskyt psychotických onemocnění oproti obecné populaci vyšší, tak studie s jednovaječnými dvojčaty (viz tabulka 1). Meta-analýza sedmi studií prokázala, že riziko projevů duševní poruchy u osob v příbuzenském vztahu s osobou trpící schizofrenií činí 4,8 %, což je 10násobek obdobného rizika (0,5 %) příbuzných zdravých jedinců (Kendler and Diehl 1993). Studie provedené na dvojčatech současně potvrdily význam genů v interakci s rizikovými faktory prostředí, což potvrzuje přibližně 50% konkordance výskytu nemoci u jednovaječných dvojčat. U dvojvaječných dvojčat činila jen asi 17 % (Cardno and Gottesman 2000).

Neméně důležité jsou adopční studie, ve kterých se prokázalo, že riziko spojené s nemocí rodiče nezaniká výchovou v adoptivní rodině (Gottesman and Shields 1982). Genetická vloha může být přenášena jak nemocnými tak i zdravými jedinci. Současné genetické studie se zabývají hledáním specifických genů asociovaných se schizofrenií (asociační studie, např. gen pro dopaminový D_3 receptor, gen pro serotoninový 5-HT_{2A} receptor, gen pro serotoninový transportér (SERT), gen pro katechol-O-metyl transferázu (COMT) apod. (Höschl et al. 2004)) nebo hledáním vazby mezi jednotlivými geny a fenotypem onemocnění (vazebné studie). Cílem vazebných studií je najít, jak blízko jsou u sebe dva genetické lokusy: jeden spojený s fenotypem choroby a druhý kódující určitý faktor či ukazatel. Pokud jsou dva lokusy blízko sebe, je větší pravděpodobnost, že segregují oba společně. Tyto studie se provádějí v rodinách s větším počtem příbuzných a s několika nositeli chorobného fenotypu nebo v populaci s vysokou mírou genetické příbuznosti.

Tabulka 1. Riziko vzniku schizofrenie podle příbuznosti (podle: Höschl et al. 2004).

Stupeň příbuznosti	Riziko
Monozygotní dvojčata	48 %
Sourozenci se dvěma nemocnými rodiči	46 %
Sourozenci s jedním nemocným rodičem	17 %
Děti	13 %
Rodiče	6 %
Sourozenci	9 %
Dizygotní dvojčata	17 %
Nevlastní sourozenci	6 %
Neteře/synovci	4 %
Vnoučata	5 %
Tety/strýci	4 %
Vzdálení bratranci	2 %

Genetické nálezy u schizofrenie při celogenomovém pohledu nedosahují dostatečné přesvědčivosti. Na rozvoji schizofrenního onemocnění se podílí celá řada genů, nicméně jejich vliv není možné hodnotit jejich součtem. Tyto geny jsou ve vzájemné interakci, přičemž jedna genová varianta podmiňuje vliv dalších genů. Současně jeden fenotyp může být podmíněn různými změnami v jednom genu (mutacemi) nebo různých genech. Z genetického pohledu by pak schizofrenní onemocnění mohlo být heterogenní skupinou genetických poruch s podobným fenotypem. Vzhledem k tomu, že výskyt schizofrenie ani u monozygotních dvojčat nedosahuje 100% shody, je nutno do genetických modelů inkorporovat vliv prostředí, který zřejmě sehrává při rozvoji tohoto onemocnění významnou úlohu. Do současnosti byla popsána řada kandidátních genů, u kterých se prokázala větší či menší asociace se schizofrenním onemocněním, např.: gen řídící expresi regulátoru G-proteinové signalizace (gen RGS4), geny Disrupted-in Schizophrenia 1“ (DISC1) a

„Disrupted-in Schizophrenia 2“ (DISC2), gen pro glutamátdekarboxylázu 67 (GAD67), gen pro disbindin (DTNBP1), gen FOXP2, reelinový gen (RELN), gen pro Neuregulin-1 (NRG1), gen pro mozkem produkovaný neurotrofní faktor (BDNF), gen pro katechol-o-metyltransferázu (COMT) a celá řada dalších (Šťastný a Balcar 2008). Nejčastěji se geny asociované se schizofrenií týkají glutamátergního systému. Například protein neureugulin-1 reguluje expresi podjednotek NMDA receptoru, produkt genu *G72* interaguje s enzymmem oxidázou D-aminokyselin (DAAO), který oxiduje D-serin a snižuje jeho dostupnost pro aktivaci glycinového místa na N-metyl-D-aspartátového (NMDA) receptoru (Moghaddam 2004), protein dysbindin-1 a dystrobreviny tvoří součást dystrofinového glykoproteinového komplexu, který je přítomen v postsynaptické denzitě a jeho předpokládaná funkce je ve stabilizaci glutamátových NMDA receptorů (Owen et al. 2004). Podobně významné jsou i geny asociované s funkcí dopaminergního systému, jako je např. COMT, který je klíčovým enzymem pro odbourávání doapminu. Našel se polymorfismus na obou verzích genu pro COMT na kodonu 108 a 158. Enzym je stabilnější a má větší aktivitu pokud je v obou případech zařazen valin (forma Val/Val). Pokud enzym v obou případech obsahuje methionin (forma Met/Met), pak dochází k pomalejšímu odbourávání dopaminu. Nejčastěji je zastoupena verze Val/Met (Lachman et al. 1996). U pacientů se schizofrenií, kde se schizofrenie vyskytovala v rodinách, byla častěji zastoupena verze Val/Val (Li et al. 1996). V roce 2002 byla publikována studie prokazující asociaci mezi polymorfizmem Val/Met a schizofrenií (Shifman et al. 2002).

B) Neurochemické mechanismy schizofrenie

To, že by mohly poruchy funkce neurotransmiterových systémů hrát důležitou roli v etiopatogenezi schizofrenního onemocnění, se předpokládá již od poloviny 20. století, kdy zjištěnou zjistilo, že halucinogeny (LSD, mezkalin, psilocybin) a stimulancia (amfetamin) mohou vyvolávat experimentální psychózu u zdravých jedinců a že jejich podání vede ke zhoršení symptomatiky u nemocných schizofrenií (Hoch et al. 1952; Hollister and Sjoberg 1964). Současně v této době byl do léčby zaveden první lék proti schizofrenii – chlorpromazin a byl popsán jeho mechanismus účinku – blokáda dopaminových D2 receptorů (rekapitulaci viz v: Sedvall and Farde 1995). Vzhledem k těmto prvotním poznatkům byly monoaminy po dlouhou dobu v popředí zájmu neurovědců a psychiatrů zabývajících se patofyziologií schizofrenie. V posledních několika letech je věnováno více pozornosti aminokyselinám a to jak kyselině glutamové, tak i kyselině γ-aminomáslné (GABA). V této kapitole budou popsány změny monoaminergního, glutamátergního a GABAergního systému u schizofrenie.

Dopaminergní systém. Dopaminová hypotéza schizofrenie byla formulována poté, co zjištěnou zjistilo, že antipsychotika jako je chlorpromazin či haloperidol jsou antagonisté dopaminových D_2 receptorů, že zvyšují výdej dopaminu ve striatu a že účinky přímých dopaminergních agonistů jako je amfetamin či apomorfin vedou k zhoršení symptomatiky u nemocných či k indukci experimentální psychózy u zdravých jedinců (Snyder 1976; Seeman 1987; Carlsson et al. 2001). Navíc všechna komerčně dostupná antipsychotika jsou až do současnosti víceméně antagonisty D_2 receptorů. Později byla dopaminová hypotéza schizofrenie („přebytek dopaminu“) upravena na dopaminergní dysfunkci u schizofrenie (Moore 1999). Tato hypotéza předpokládá, že redukce aktivity glutamátergního okruhu, frontální kůra-striátum, vede k poklesu tonické složky dopaminergní transmise a k následnému zvýšení fázické dopaminergní transmise ve striatálním okruhu (Grace 1991). Současně se také předpokládá úzká souvislost a vzájemné ovlivňování dopaminových D_2 a glutamátových NMDA receptorů (Šťastný et al. 2004). U schizofrenních pacientů byla nalezena řada změn týkajících se dopaminergního systému. Příkladem mohou být snížené plazmatické hladiny kyseliny homovanilové (metabolit dopaminu) u pacientů s převahou negativní symptomatiky, a naopak zvýšené hladiny u pacientů s převahou pozitivních symptomů (Davis et al. 1991). U schizofrenních pacientů s pozitivní symptomatikou se předpokládá zvýšená dopaminergní aktivita striata/mezolimbického okruhu. Naopak pravděpodobně snížený výdej dopaminu ve frontálních oblastech (mezokortikální projekce) bývá asociován s negativními symptomy schizofrenie (Abi-Dargham et al. 1998; Soares and Innis 1999; Höschl et al. 2004). Z hlediska genetiky ukazují polymorfismy D_2 a D_3 receptorů na možnou asociaci se schizofrenním onemocněním (Arinami et al. 1994; Staddon et al. 2005).

Serotonergní systém. Serotonergní systém nabyl na významu zejména v době, kdy bylo zjištěno, že atypická antipsychotika jako je klozapin mají významnou afinitu také k serotoninovým receptorům, zejména 5-HT_{2A}. Předpokládá se, že právě ovlivnění těchto receptorů je jedním z mechanizmů atypičnosti, tj. toho, že jsou účinná proti pozitivním, negativním a kognitivním symptomům, a že zároveň mají menší vedlejší účinky způsobené blokádou D_2 receptorů (extrapyramidový syndrom, tardivní dyskinezy apod). Současně tuto hypotézu podporovala zjištění, že psychedelika jako je LSD či mezkalin, která jsou agonisty serotoninových 5-HT_{2A} receptorů jsou schopna zhoršit psychotické příznaky u nemocných a vyvolat experimentální psychózu u zdravých jedinců (Hoch et al. 1952; Hollister and Sjorberg 1964). Změny serotoninového systému u schizofrenních nemocných nebyly tak jednoznačně definovány jako u dopaminergního systému, nicméně byly popsány určité abnormity, např.

zvýšení denzity transportéru pro serotonin v podkorových oblastech, pokles denzity 5-HT_2 receptorů v prefrontální kůře (Abi-Dargham et al. 1997), pomocí zobrazovacích metod byla prokázána snížená vazba ligandů na serotoninové 5-HT_{2A} receptory v prefrontální kůře a naopak zvýšená vazba na 5-HT_{1A} autoreceptory (Höschl et al. 2004). Předpokládá se, že serotoninový systém opět hraje modulační roli ve vztahu k systémům dopaminergnímu a glutamátergnímu. 5-$HT_{2A/C}$ a 5-HT_{1A} receptory kontrolují fázický a tonický výdej dopaminu ve striatu a pravděpodobně i v prefrontální kůře. Předpokládá se, že právě tento mechanismus je zodpovědný za mnohé vlastnosti atypických antipsychotik (Horáček et al. 2006a).

Glutamátergní systém. Glutamátergní systém tvoří společně s GABA systémem největší množství synapsí v CNS. Hraje rozhodující roli při vývoji mozku (tvorba a stabilizace synapsí), pro plasticitu (učení a paměť), ale i neurotoxicitu v CNS. Nálezy u pacientů se schizofrenií ukazují na změny v expresi glutamátových receptorů, na změnu hladin glutamátu a dalších látek, které souvisejí s metabolismem glutamátu nebo se váží na glutamátové receptory (Kim et al. 1980; Tsai et al. 1995). U schizofrenních pacientů byly v některých studiích prokázány snížené hladiny glutamátu v cerebrospinální tekutině, v hipokampu a v prefrontální kůře (Kim et al. 1980; Tsai et al. 1995). Jsou ale i studie, které to neprokázaly (Perry 1982; Tsai et al. 1998). Studie s magnetickou rezonanční spektroskopií opět nevykazují jednotné výsledky (Stanley et al. 1996; Hashimoto et al. 2005a). Kromě změn v hladinách glutamátu byly u pacientů se schizofrenií nalezeny i změny koncentrace modulátorů glutamátových receptorů, jako například *N*-acetyl-L-aspartyl-L-glutamátu (NAAG) či změny v hladině endogenního antagonisty NMDA receptorů – kynurenové kyseliny či modulátoru funkce NMDA receptorů D-serinu (Tsai et al. 1995; Erhardt et al. 2001; Hashimoto et al. 2005b). Podobně nejednotné jsou nálezy, prokazující jak zvýšení, tak snížení nebo žádnou změnu počtu glutamátových receptorů u schizofrenních pacientů (např. Kornhuber et al. 1989; Noga et al. 1997; Pietraszek 2003). O schizofrenii se často hovoří jako o hypoglutamátergním syndromu charakterizovaném dysfunkcí NMDA receptorů (Carlsson 1995; Jentsch and Roth 1999; Carlsson et al. 2001). Pro vyslovení glutamátergní hypotézy schizofrenie byl důležitý objev účinků tzv. nekompetitivních antagonistů NMDA receptoru – ketaminu, fencyklidinu (PCP) a dizocilpinu (MK-801). Mechanismem účinku je zablokování NMDA receptoru, který je kanálem pro hořčík a vápník. Současně prostřednictvím GABA interneuronů, na kterých jsou tyto receptory zejména lokalizovány, dojde ke zvýšení výdeje glutamátu (Carlsson et al. 2001). Antagonisté NMDA receptoru u zdravých dobrovolníků indukují změny v chování a prožívání, které se do značné míry překrývají jak s pozitivními tak negativními symptomy schizofrenie (Krystal et al. 1994; Coyle et al. 2003). Navíc jsou-li tyto látky podány

schizofrenním nemocným, vedou k exacerbaci symptomů i u jinak zaléčených pacientů (Malhotra et al. 1997a; Malhotra et al. 1997b). V animálních modelech mají tyto látky široké uplatnění jako modely psychóz a současně mají významnou hodnotu vzhledem k prediktivnímu testování účinku potenciálních i stávajících antipsychotik (Jentsch and Roth 1999; Carlsson et al. 2000). V souladu s neurovývojovou hypotézou schizofrenie může porucha ve vývoji glutamátergního systému vést ke změnám chování, učení apod. a být tak základem pro manifestaci schizofrenních symptomů. V poslední době se také objevují důkazy o přímém vlivu antipsychotik na glutamátergní systém a o možném klinickém využití látek aktivujících glutamátové NMDA receptory v léčbě schizofrenie (Ossowska et al. 2002; Horáček et al. 2006a). Současně je také stále větší význam kladen na studium a ovlivnění metabotropních a AMPA (α-amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazol propionová kyselina) glutamátových receptorů. V posledním roce bylo dokonce v rámci klinického zkoušení testováno antipsychotikum, jež je selektivním agonistou metabotropních glutamátových $mGlu_{2/3}$ receptorů a podle zatím dostupných údajů vykazuje velice slibné výsledky v léčbě srovnatelné s jinými antipsychotiky (Patil et al. 2007).

GABA-ergní systém. Kyselina γ-aminomáselná (GABA) je hlavní inhibiční neurotransmiter v mozku savců. U schizofrenních pacientů byly prokázány změny v GABA-ergním systému, jako je snížený transport a zvýšené hladiny GABA v mozkové intersticiální tekutině, pokles aktivity GAD 65/67 (GABA vzniká dekarboxylací glutamátu enzymem glutamátdekarboxylázou GAD 65/67), snížená exprese její mRNA v prefrontální kůře (Volk et al. 2000). Dále byly nalezeny polymorfismy genu pro GAD67 asociované se schizofrenií (Šťastný and Balcar 2008) a byly také prokázány změny v denzitě pre- i postysnaptických $GABA_A$ receptorů (Benes 1999), změna počtu jednotlivých podtypů GABA neuronů (Benes 2000; Lewis et al. 2004) apod. Vzhledem k tomu, že GABA je hlavním inhibičním neurotrasnmiterem na většině interneuronů, funkce GABA systému je úzce spjatá s funkcí všech ostatních neurotrasnmiterových systémů. Díky tomu role tohoto systému nabývá v etiopatogenezi schizofrenního onemocnění stále většího významu.

C) Morfologické a funkční nálezy u schizofrenie

Z morfologického hlediska byla u schizofrenních pacientů prokázána řada abnormit jak post mortem tak i pomocí zobrazovacích metod. Mezi opakovaně prokázané abnormity patří rozšíření komorového systému, rozšíření sulků, zejména v oblasti frontálního kortexu, zmenšení hipokampu, změny v limbickém systému (cingulum, gyrus angularis, amygdala apod.) a byly také prokázány změny i na úrovni bílé hmoty. Změny se mohou týkat jak

celkového počtu neuronů, tak jejich dendritického větvení a současně mohou být změny a i na úrovní glií (Andreasen et al. 1994; Jaskiw et al. 1994; Bogerts 1999; Harrison 1999; Höschl et al. 2004). Rozšíření komorového systému bývá často asociováno s vyšším výskytem negativních symptomů schizofrenie a horší odpovědí na antipsychotika. Předpokládá se, že část morfologických změn může být následkem chronického podávání antipsychotik (Höschl et al. 2004). Nálezy pomocí funkčně zobrazovacích metod velmi závisí na tom, jedná-li se o první epizodu či akutní exacerbaci psychózy nebo jde-li o chronického nemocného dlouhodobě léčeného antipsychotiky. K hodnocení funkčních změn se nejčastěji používají metody funkční magnetické rezonance (fMRI), pozitronové a jednofotonové tomografie (PET a SPECT), a také se hodnotí změny v kvantitativní elektroencefalografii (QEEG) jako jsou EEG výkonová spektra, koherence či LORETA (low resolution electromagnetic tomography). Na rozdíl od fMRI, PET či SPECT, které mají poměrně dobrou prostorovou rozlišovací schopnost, elektrofyziologické metody mají výbornou časovou rozlišovací schopnost. U akutních psychóz převažují nálezy zvýšené mozkové perfůze (měřeno pomocí funkční magnetické rezonance) a zvýšeného metabolismu mozku (měřeno pomocí PET se značenou fluorodeoxyglukózou). Tyto změny jsou nejčastěji lokalizovány do frontálních a temporálních kortikálních oblastí a do oblastí bazálních ganglií. Například auditivní halucinace bývají asociovány s hypermetabolismem v temporálních lalocích. Naopak u chronických pacientů, nebo pacientů s negativní symptomatologií bývají přítomny známky hypofunkce frontálních oblastí (Andreasen et al. 1992; Buchsbaum et al. 1992; Kaplan et al. 1993; Kopeček and Horáček 2002; Horáček et al. 2006b). V EEG převažují u schizofrenních pacientů nálezy zvýšení výkonu v pomalovlných částech spektra především nad frontálními oblastmi (delta, theta, alfa1) a naopak snížení výkonu ve vyšších pásmech (beta, vysoká beta, gama). Výsledky koherenčních analýz nejsou zdaleka jednotné, nachází se jak zvýšení koherencí tak i snížení koherencí napříč spektrem a mezi různými oblastmi. Významnou roli zde hraje nejednotnost designu studií a opět i vliv medikace, jakož i rozdíl klidového záznamu versus záznamu během aktivačních úkolů (Brunovský et al. 2004; Brunovský 2004).

IV. Animální modely schizofrenie

Přes to, že schizofrenie je považována za typicky lidské onemocnění, snažíme se ve výzkumu této poruchy využít animální modely, jež nám umožňují studovat mechanizmy, které u lidí z různých důvodů přímo studovat nelze. Příznaky jako halucinace či bludy můžeme na zvířatech modelovat velmi obtížně , neboť jejich rozpoznání závisí na ústním sdělení pacienta. Nicméně některé parametry v animálních modelech hodnotit můžeme, například elektrofyziologické parametry, dezorganizaci chování (např. strukturu a intenzitu lokomoce, dezorganizaci chování zvířete v prostoru), některé kognitivní funkce, senzorimotorické zpracování informací (deficit v prepulzní inhibici úlekové reakce apod.). V animálních modelech se dají hodnotit i parametry, které se u lidských jedinců nedají hodnotit buďto vůbec nebo pouze nepřímými metodami. Jde například o farmakokinetiku a dynamiku látek přímo v mozkové tkáni, měření změn hladin neurotransmiterů in vivo, modelování deficitu s použitím toxických nox, cílené poškození mozkových struktur, genetické modely apod. Animální modely tak mohou přinášet důležité poznatky při studiu i tak specificky lidského onemocnění jako je schizofrenie. Jedním z problémů animálních modelů v psychiatrii je však nedostatek důležitých informací o etiologii a patofyziologii jednotlivých onemocnění.

Animální modely však dovolují provádět farmakologické manipulace, umožňují výhodně zacházet s vnějšími vlivy a provádět dlouhodobý výzkum vzhledem ke krátkému životnímu cyklu pokusných zvířat. Otázka validity animálních modelů řeší, nakolik konkrétní model odpovídá skutečnosti a nakolik nám umožní předpovídat určité vlastnosti. Modely tedy mají svou prediktivní validitu pro antipsychotický účinek, fenomenologickou validitu, konstrukční validitu a rozlišovací validitu (specifita pro dané onemocnění) (Geyer and Markou 1995). Většinou nelze zajistit všechny validity v jednom animálním modelu. Je ovšem nezbytné vyjádřit, jakou má daný model platnost a za jakým účel byl vytvořen. Při tvorbě animálních modelů se snažíme použít heuristický přístup, vede k formulování nových hypotéz, jež vycházejí z experimentů týkajících se dané nemoci a snaží se vysvětlit její fenomenologii.

V našich experimentech jsme se zaměřili na fenomenologické modely, v nichž hodnotíme změny v chování nebo v elektrické aktivitě mozku potkanů. Použili jsme farmakologické modely glutamátergní, dopaminergní a serotonergní (viz dále). Z hlediska chování jsme se zaměřili na měření lokomočních změn indukovaných v otevřeném poli, změn

v ostatních prvcích chování a na senzorimotorické zpracování informací měřené pomocí prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR).

Změny v lokomoci zvířat jsou pro určité látky charakteristické. Řada látek vyvolává hyperlokomoci a prostorovou dezorganizaci lokomoce v otevřeném poli. Za normálních podmínek potkani vykazují charakteristickou strukturu chování v otevřeném poli. Po umístění do otevřeného prostranství se začnou pohybovat podél stěn prostoru a explorují (čenicháním, vztyčováním); posléze, když jsou již více s prostorem obeznámeni, vydávají se i do středu otevřeného pole, které je pro ně zdrojem většího nebezpečí. Zhruba po 5-ti minutách jsou již s prostorem natolik obeznámeni, že se přemístí do nejtemnějších částí prostoru (nejčastěji v rohu) kde pak setrvávají po většinu času a začnou se čistit (grooming), což je známkou habituace na toto prostředí (Lát 1973; Eilam and Golani 1989; Golani et al. 1993). Po podání některých látek dojde různým způsobem k narušení struktury tohoto normálního chování. V modelech psychóz nejčastěji pozorujeme naprostou dezorganizaci všech těchto prvků, která se nejčastěji projevuje jako hyperlokomoce a dezorganizace pohybu v čase a prostoru, úbytek exploračních aktivit, vymizení habituace a výskyt stereotypních prvků. Tyto projevy je do značné míry možno považovat za modely pozitivních příznaků psychóz (dezorganizace chování, stereotypie). Narušení senzorimotorického zpracování informací je jedním z charakteristických symptomů popisovaných u schizofrenních nemocných (Geyer et al. 2001; Braff et al. 2001). Jde ve své podstatě o narušení rozlišovací schopnosti přidávat významnost pouze určitým důležitým podnětům z prostředí. Vinou toho dochází k přehlcení nevýznamnými stimuly (převaha šumu nad signálem) (Braff et al. 2001). Narušení senzorickomotorického „gatingu“ se dá hodnotit např. pomocí prepulzní inhibice úlekové reakce, která je u takto postižených jedinců standardně narušena. Jde o vývojově starou reakci, která je přítomna jak u lidí, tak u potkana a jiných savců. Principem je měření velikosti úlekové reakce na neočekávaný intenzivní podnět (ten může být akustický nebo prudké fouknutí na šíji nebo do oka). Úlek se měří jako velikost motorické odpovědi. V případě, že před hlavním podnětem (pulzem) předchází v těsné časové blízkosti (milisekundách) lehce nadprahový podnět - prepulz, dojde za normálních okolností ke zmenšení úlekové reakce na vlastní podnět = prepulzní inhibice. Na řízení této reakce se podílí řada struktur a neurotransmiterových systémů, o kterých je známo, že hrají důležitou roli v patogenezi schizofrenního onemocnění (Swerdlow and Geyer 1998; Swerdlow et al. 2001; Geyer et al. 2001).

U schizofrenie byla pomocí elektroencefalografie prokázána řada abnormalit jak ve vztahu k pozitivní tak i negativní symptomatologii, nicméně zjištěná data jsou značně

nekonzistentní. Ve spektrální analýze je relativně často popisován nárůst pomalovlnných aktivit, především ve frontálních oblastech kortexu, a změny v oblastech temporálního kortexu (Kahn et al. 1993; Gerez and Tello 1995; Begic et al. 2000a; Begic et al. 2000b; Harris et al. 2006). Z hlediska EEG koherencí (míra funkční konektivity) prokázaly některé studie u schizofrenních pacientů nárůst inter-hemisferálních (Merrin et al., 1989; Nagase et al., 1992; Wada et al., 1998) nebo intra-hemisferálních koherencí (Merrin et al. 1989; Mann et al. 1997); jiní autoři naopak nalezli snížení intra- resp. inter-hemisferálních EEG koherencí (Flor-Henry and Koles 1984; Hoffman et al. 1991; Michelogiannis et al. 1991; Morrison-Stewart et al. 1991; Tauscher et al. 1998; Winterer et al. 2001; Brunovský et al. 2004). Kvantitativní EEG v animálních modelech psychóz nebylo doposud hodnoceno, takže nejsou k dispozici téměř žádné údaje o tom, k jakým změnám dochází v animálních modelech a nakolik je možné tyto změny srovnávat s nálezy u lidí.

A) Farmakologické modely.

Jedny z nejčastějších modelů schizofrenie jsou modely farmakologické, opírající se o neurochemické hypotézy tohoto onemocnění. Jde především o modely dopaminergní, serotonergní a glutamátergní. Pro modelování se využívají láky, které u lidských dobrovolníků vyvolávají experimentální psychózu a současně zhoršují psychotické příznaky u nemocných. Tyto modely mají velmi dobrou fenomenologickou i predikční validitu.

Dopaminový model vychází z původní dopaminové hypotézy schizofrenie (Seeman 1987; Carlsson 1995). K modelování na zvířeti se nejčastěji používá amfetamin, metamfetamin, kokain nebo apomorfin. Tyto látky mají zejména stimulační účinky, jež jsou způsobeny zvýšením výdeje dopaminu na synapsi, především v oblasti striata (Moore 1999). U zvířat typicky vyvolávají zvýšenou lokomoci, stereotypie a mohou navozovat i kognitivní deficit. V řadě případů tyto látky narušují i senzorimotorické zpracování informací. Přitom většina symptomů navozených těmito látkami je antagonizována jak klasickými tak atypickými antipsychotiky (Seeman 1987; Swerdlow and Geyer 1998).

Serotoninový model se opírá o serotoninovou hypotézu schizofrenie. Pro modelování se nejčastěji používají halucinogeny LSD či psilocin, ale je možno použít i další látky s podobnými účinky, např. mezkalin nebo, halucinogenní deriváty fenyletylaminu či tryptaminu, jejichž mechanismem je působení na serotoninové 5-HT_{2A} receptory (Bowers, Jr. and Freedman 1966; Vollenweider et al. 1997; Swerdlow and Geyer 1998; Vollenweider et al. 1998; Vollenweider and Geyer 2001; Páleníček et al. 2004b; Páleníček et al. 2004c; Páleníček 2006; Páleníček 2007; Páleníček et al. 2008a). Tyto látky mohou v animálním modelu vést

jak k hypolokomoci tak i k hyperlokomoci, narušují senzorimotorické zpracování informací a vedou k dezorganizaci chování. U lidí typicky vyvolávají halucinace, které - na rozdíl od typických auditivních a intrapsychických halucinací, jež bývají u schizofrenních pacientů nejčastější - jsou však většinou vizuálního charakteru (Hoch et al. 1952; Hollister and Sjoberg 1964; Bowers, Jr. and Freedman 1966). Někteří autoři se přes to domnívají, že tyto látky mohou u lidí vyvolávat stavy, které jsou podobné časnému akutnímu stadiu schizofrenie (Vollenweider et al. 1998; Vollenweider and Geyer 2001). Kromě halucinogenů je možno modelovat i některé symptomy podáním látek, jež zvyšují výdej serotoninu a dopaminu, jako je například droga MDMA (3,4-metylendioxymetamfetamin) a její analogy (Fišerová and Páleníček 2001a; Fišerová and Páleníček 2001b; Páleníček and Šustková 2003). Tyto látky mají u zvířat opět nejčastěji stimulační účinky a vedou také k desorganizaci chování a narušení psychomotorického zpracování informací (Bubeníková et al. 2005a; Páleníček et al. 2005b; Páleníček et al. 2007f). U lidí pak vedou ke stavům, které jsou fenomenologicky spíše bližší manii, nicméně ve vysokých dávkách opět mohou vést k navození experimentální psychózy a halucinací (Fišerová and Páleníček 2001a; Páleníček and Šustková 2003). V animálním modelu jsou účinky těchto látek blokovány především antagonisty serotoninových 5-HT_2 receptorů, popřípadě antagonizovány antipsychotiky (Arnt 1992; Abi-Dargham et al. 1997; Marona-Lewicka et al. 2005).

Glutamátergní model je založen na akutním nebo chronickém podání subanestetických dávek nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů (MK-801, PCP, ketamin). Tyto látky také vyvolávají u lidí experimentální psychózu, jež je dokonce zdaleka nejpodobnější vlastnímu psychotickému onemocnění, neboť modeluje jak pozitivní tak i negativní symptomy psychózy (Jentsch and Roth 1999). U zdravých jedinců akutní podání PCP vyvolá vizuální halucinace, euforii, katatonii a zároveň kognitivní deficit (Krystal et al., 1994). Dlouhodobé podávání PCP má za následek sluchové a další halucinace, kognitivní deficit, anxiózní stavy nebo paranoidní chování a sociální deficit (Jentsch a Roth, 1999). Podání antagonistů NMDA chronickým pacientům se schizofrenií zhoršuje jejich primární příznaky (Lahti et al. 1995a; Lahti et al. 1995b). U zvířat tyto látky indukují změny v chování, zejména hyperlokomoci, dezorganizované chování, zcela dezorganizovanou lokomoci v otevřeném poli, stereotypie, kognitivní deficit, deficit v senzorimotorickém zpracování informací a zhoršují sociální chování, což je opět možno považovat za koreláty psychózy (Jentsch and Roth 1999; Páleníček et al. 2003a; Bubeníková et al. 2004; Bubeníková et al. 2005b; Bubeníková-Valešová et al. 2007).

B) Genetické a neurovývojové modely

Dalšími přístupy používanými k modelování psychóz jsou genetické modely a neurovývojové modely. Genetické modely jsou založeny na transgenních zvířatech, kterým jsou buďto vloženy (knock-in) nebo odejmuty (knock-out) určité specifické geny, což má za následek specifické změny v biochemismu a následně často i chování zvířat. Příkladem mohou být modely myší s knock-outovanými geny pro podtypy dopaminových receptorů, dopaminového či serotoninového transportéru, myši s modifikovanou funkcí glutamátergního systému apod. (Gainetdinov et al. 2001). Jiným způsobem práce s genetickými modely je kmenová selekce jedinců charakterizovaných určitou vlastností – fenotypem (Ellenbroek et al. 1995; Mohn et al. 1999; Lipska and Weinberger 2000; Miyamoto et al. 2001).

Neurovývojové modely jsou založeny na neurovývojové hypotéze schizofrenie, která předpokládá, že k rozvoji onemocnění dochází na základě špatného vývoje mozku (diskonekce). Používá se několik modelů, jako je model malnutriční, model perinatální hypoxie, modely s virovou infekcí v prenatálním období, či modely se simulovaným vlivem některých toxinů (např. souvisejících s virovou infekcí) vznikajících při zánětlivém procesu v CNS (Morgane et al. 1993; Westergaard et al. 1999; Hornig et al. 1999; Bubeníková-Valešová et al. 2006).

V. Cíle

V rámci disertační práce jsme řešili tyto výzkumné cíle:

Ad1) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska lokomočního chování

Ad2) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska chování v testu otevřeného pole

Ad3) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení prepulzní inhibice úlekové reakce

Ad4) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení kvantitativního EEG

Ad5) Za pomoci selektivních ligandů receptorů a antipsychotik srovnání role různých serotoninových a dopaminových receptorů v mechanizmu změn zjištěných v námi použitých animálních modelech psychóz

VI. Použité metodiky

V experimentech jsme použili hodnocení lokomoce potkana v testu otevřeného pole, hodnocení různých prvků chování v testu otevřeného pole, měření prepulzní inhibice akustické úlekové reakce, registrace kortikálního EEG a biochemické analýzy vzorků tkáně.

A) Zvířata

Použili jsme potkaní samce a samice kmene Wistar (Konárovice), o hmotnosti 200-300g (pro samce) a 160-200g (pro samice). Použitá velikost se lišila v závislosti na typu experimentu.

B) Použité farmakologické modely

Zaměřili jsme se na modely s využitím nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů - látek MK-801 a ketaminu (glutamátergní model) a dále na modely serotonergní s využitím psychedelik LSD, mezkalinu, psilocinu, 2C-B (4-bromo-2,5-dimetoxyfenyletylamin) a MDMA a experimenty v dopaminergním modelu s použitím amfetaminu.

Glutamátergní model. V našich experimentech jsme použili subanestetické dávky MK-801 (0,1 a 0,3 mg/kg) a ketaminu (9 a 30 mg/kg). Přínos těchto modelů spočívá především v modelování pozitivních příznaků (hyperlokomoce, dezorganizace lokomoční aktivity) a v modelování deficitu senzorimotorického zpracování informací. Tyto látky navíc mohou měnit i některé další parametry, jako je indukce kognitivního deficitu v testu alotetického vyhýbání se místu (AAPA), což je jeden z modelů negativních symptomů psychóz. Tyto modely jsou zároveň nejčastěji používány k predikci antipsychotického účinku farmak.

Serotonergní model. V našich experimentech jsme použili vždy několik různých dávek LSD (5, 50 a 200 μg/kg), psilocinu (0,25 , 1 a 4 mg/kg), mezkalinu (10, 20 a 100 mg/kg), 2C-B (10, 25 a 50 mg/kg) a MDMA (2,5, 5 a 10 mg/kg). Jejich přínosem je modelování pozitivních příznaků schizofrenie a především deficitu senzorimotorického zpracování informací. Na rozdíl od glutamátergních modelů nám umožňují studovat přímo serotonergní systém a roli 5-HT2 receptorů v etiopatogenezi schizofrenie.

Dopaminergní model. V našich experimentech jsme použili amfetamin v dávce 1 a 4 mg/kg. Dopaminergní modely jsou zaměřeny především na modelování pozitivních příznaků psychóz, jejich přínosem je především možnost studovat izolovaně dopaminergní systém a jeho roli v etiopatogenezi schizofrenie.

C) Ethovision – analýza lokomoce

V našich experimentech jsme využili elektronického systému Ethovision Color Pro v.3.1.1 k hodnocení lokomoce v testu otevřeného pole. Zvířata byla testována v černé čtvercové aréně o rozměrech 68 x 68 x 30 cm, kde byla po různě dlouhou dobu automaticky registrována jejich lokomoční aktivita. Aréna je umístěna v odhlučněné, rovnoměrně osvětlené experimentální místnosti. Aréna byla současně virtuálně rozdělena do 5x5 identických čtverců - zón. Pomocí programu Ethovision jsme hodnotili celkovou lokomoci zvířat za celý časový úsek, po který bylo zvíře registrováno, dále lokomoci zvířat v 5-ti minutových intervalech, frekvenci výskytu a dobu strávenou v jednotlivých zónách. Pomocí posledních dvou parametrů bylo možno určit míru tigmotaxe a času stráveného ve středu arény. Detailní popis metodiky je v příloze č.1, např. (Páleníček et al. 2005b; Páleníček et al. 2008a).

D) Test otevřeného pole – open field

Jde o tzv. klasický test otevřeného pole, který umožňuje vizuálně hodnotit celu řadu behaviorálních prvků. Obdélníková aréna (68×51×35 cm) je rozdělená na 3x2 identických čtverců a umístěná v odhlučněné, rovnoměrně osvětlené aréně. Po umístění zvířete do arény, je pomocí programu Activities a zkušeného experimentátora vizuálně hodnoceno chování; současně je pořizován videozáznam pro dodatečnou analýzu, pokud je třeba. V rámci tohoto testu jsme kromě lokomoce hodnotili i další prvky chování zvířat: rearing (vztyčování), sniffing (čenichání), grooming (čištění), imobilita, flat body posture (pozice při kterém se zvíře jakoby plazí) a některé další méně obvyklé prvky chování. Detailní popis metodiky je v příloze č.1. (Páleníček et al. 2007f).

E) Prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR)

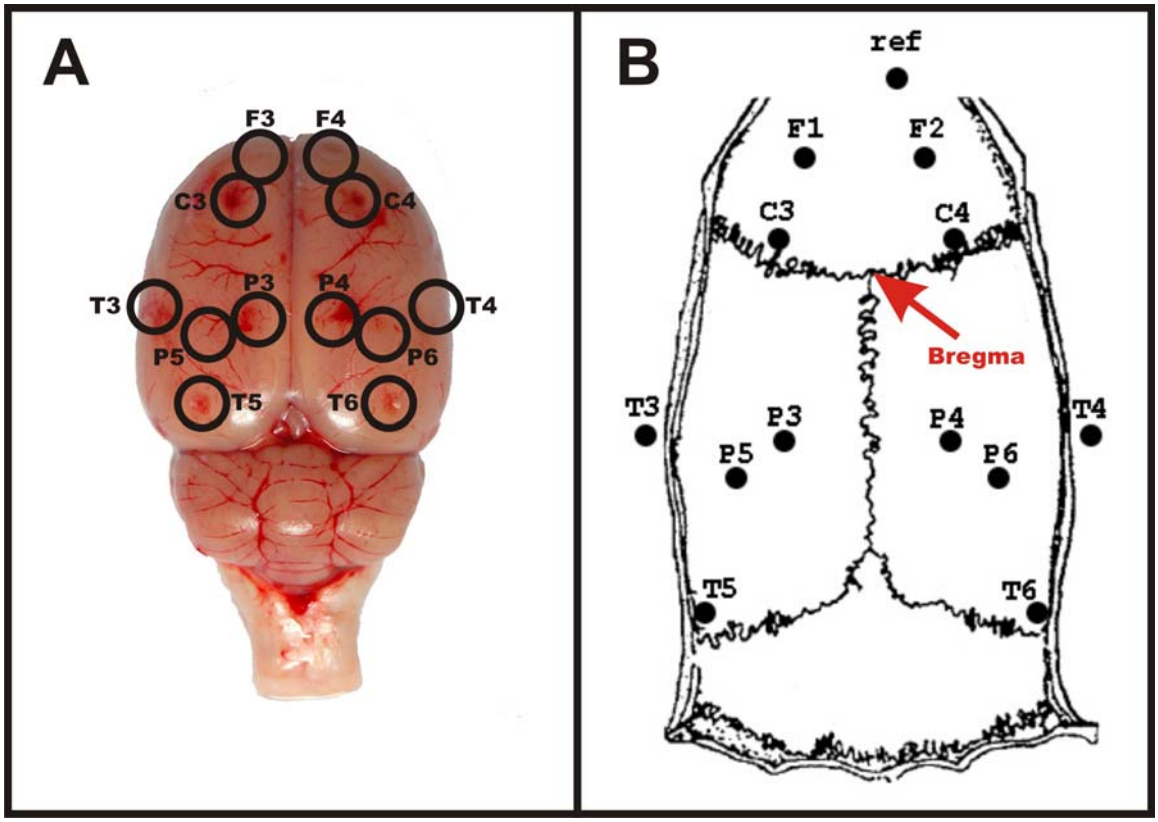
Pro měření prepulzní inhibice jsme použili přístroj SR-Lab (San Diego Instruments, USA). Použitá intenzita šumu pozadí byla 62 dB. Aklimatizační perioda trvala 5 min (62 dB), následovalo pět akustických podnětů (pulzů, p) o síle 120 dB. Dále experiment pokračoval aplikací 4 odlišných typů sekvencí podnětů v pseudorandomizovaném uspořádání **1)** úlekový podnět, **p120:** 120db, 20 ms trvání; **2)** předpodnět (prepulz) + úlekový podnět, **pp13:** 13 dB nad šum (75 dB, 20 ms trvání), byl aplikován 100 ms před aplikací úlekového podnětu (120 dB); **3)** samotný předpodnět, **p13:** 13 dB nad šum (75 dB, 20 ms trvání); **4)** žádný podnět (62 db, 20 ms). Celkem během jednoho experimentu bylo aplikováno 20 sekvencí podnětů, interval mezi nimi byl v průměru 30 s. Prepulzní inhibice úlekové reakce (PPI) je vyjádřena jako procentuální rozdíl podle vzorce: [100 - (průměrná odpověď na předpodnět + podnět /

průměrná odpověď na úlekový podnět)] x 100. Mimo prepulzní inhibice úlekové reakce byla také sledována průměrná úleková reakce (ASR) potkanů na samotný úlekový podnět (120 dB). Detailní popis metodiky je v příloze č.1, např. (Bubeníková et al. 2005a; Bubeníková et al. 2005b; Páleníček et al. 2008a).

F)) hodnocení elektrické aktivity mozku pomocí kvantitativního EEG

Metodika sestává ze tří kroků: implantace elektrod, registrace záznamu a analýza záznamu. EEG registrujeme z kortikálních elektrod ze tří oblastí mozku – frontální, parietální a temporální.

Implantace elektrod. 7 dní před vlastní registrací EEG záznamu je potkanům v celkové halotanové anestézii stereotakticky implantováno 14 stříbrných elektrod. 12 aktivních elektrod implantujeme nad homologní části obou hemisfér. Koordináty pro jednotlivé elektrody jsou: 5mm anteriorně a +/- 2 mm laterálně od Bregmy pro frontální asociační kůru (elektrody F3/F4), 2.2mm anteriorně a +/- 3.2 mm laterálně od Bregmy pro primární motorickou kůru (elektrody C3/C4), 3.8 mm posteriorně a +/- 2.5 mm laterálně od Bregmy (elektrody P3/P4) a 4.5 mm posteriorně a +/- 4.5 mm laterálně od Bregmy (elektrody P5/P6) pro oblasti parietální asociační kůry, 3.6 mm posteriorně a +/-7.2 mm laterálně od Bregmy pro temporální asociační kůru (elektrody T3/T4) a 8.3mm posteriorně a 5.8 mm laterálně od Bregmy pro sekundární sluchovou kůru (elektrody T5/T6) **(Obrázek 1).** Koordináty pro implantaci elektrod byly převzaty ze stereotaktického atlasu The Rat Brain – Fourth Edition (Paxinos and Watson 2003). Referenční elektrodu (Ref) implantujeme nad oblast čichového laloku a zemnící elektroda (G) je umístěna subkutánně v okcipitální oblasti. Všechny elektrody fixujeme ke kalvě pomocí zubního cementu Dentalon. Po operaci jsou zvířata umístěna individuálně do plastových akvárií, kde setrvají až do dne registrace EEG. Den před zahájením registrace je potkanům v krátkodobé celkové halotanové anestézii přicementována redukce pro připojení k registračnímu setu.



Obrázek 1. Označení použitých elektrod na povrchu mozku (A) a na povrchu kalvy (B). Koordináty pro implantaci elektrod jsou uváděny v mm od bregmy a jsou převzaty z Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 4th ed. New York: Elsevier, Academic Press 2003.

(A = anterio(+)-posteriorně(-), L= laterálně)

F3/F4 – frontální asociační kůra ***(A = + 5,0 mm, L = +/- 2,0 mm)***

C3/C4 – primární motorická kůra ***(A = + 2,2 mm, L = +/- 3,2 mm)***

P3/P4 – mediální parietální asociační kůra ***(A = - 3,8 mm, L = +/- 2,5 mm)***

P5/P6 – laterální parietální asociační kůra ***(A = - 4,5 mm, L = +/- 4,5 mm)***

T3/T4 – sekundární auditorní kůra ***(A = - 3,6 mm, L = +/- 7,2 mm)***

T5/T6 – temporální asociační kůra ***(A = - 8,3 mm, L = +/- 5,8 mm)***

Ref – referenční elektroda

Registrace EEG. Všechna nahrávání EEG záznamů se provádějí mezi 09:00 a 14:00h. Celková délka registrace jednoho EEG záznamu je různá v závislosti na kinetice látky, obvykle od 30 do 60 minut. Potkani jsou kabelem propojeni s 21 kanálovým zesilovačem systému BrainScope (Unimedis, Praha). V průběhu prvních 10 minut je registrován klidový záznam, po něm je zvířatům aplikována látka (např. ketamin či amfetamin) a pokračuje se v

registraci. Po celou dobu experimentu jsou zvířata volně pohyblivá ve svých akváriích, EEG záznam je ukládán na pevný disk připojeného počítače pro následné vyhodnocení.

Analýza dat. Z každého EEG záznamu je pečlivě vyselektováno několik bezartefaktových epoch klidového záznamu v celkové délce 30 sekund, které slouží jako individuální kontrola. V dalším kroku jsou vizuálně selektovány bezartefaktové epochy v celkové délce 30 sekund z doby ve které chceme stanovovat změny po aplikaci látek. Každé zvíře tedy je současně i svou vlastní kontrolou. Následná kvantitativní a statistická analýza EEG dat se provádí pomocí software Neuroguide Deluxe v. 2.3.7. (© 2002 - 2007 Applied Neuroscience, Inc.). Za pomocí rychlé Fourierovy transformace (FFT) získáme hodnoty auto-spekter jednotlivých elektrod a křížových spekter vybraných elektrodových párů v těchto frekvenčních pásmech: delta (1 – 4 Hz), theta (4 – 8 Hz), alfa (8 – 12 Hz), beta (12 – 25 Hz), vysoká beta (25 – 30 Hz), gama (30 - 40 Hz) a vysoká gama (40 - 50 Hz). Hodnoty EEG koherencí pak počítáme pro 8 intra-hemisferálních (F3/T3, F3/T5, F3/P3, F3/P5, F4/T4, F4/T6, F4/P4, F4/P6) a 6 inter-hemisferálních (F3/F4, C3/C4, T3/T4, P3/P4, P5/P6, T5/T6) elektrodových párů **(Obrázek 1)**. Statistická analýza dat se provádí pomocí párového T-testu, přičemž za signifikantní jsou považovány rozdíly na hladině významnosti $p < 0,05$. Detailní popis metodiky je v příloze č.1 (Páleníček et al. 2007c).

G) Biochemické analýzy

Vzorky frontálního kortexu nebo celé mozky pro hodnocení byly odebrány po usmrcení zvířat, homogenizovány, zcentrifugovány a následně byl odebrán supernatant pro vlastní analýzy. Analýza hladin tryptofanu, serotoninu a jeho metabolitu byla provedena pomocí systému vysokotlaké chromatografie (HPLC) s elektrochemickým detektorem Antec Decade (Antec Leyden, The Netherlands) s karbonovou detekční elektrodou. Analýzy hladin mezkalinu a 2C-B byly měřeny pomocí systému plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC-MS) přístrojem The Hewlett-Packard GC–MS system HP 6890-5973 (Agilent, Waldbronn Germany). Detailní popis obou metodik je v příloze č.1. (Bubeníková et al. 2004; Rohanová et al. 2008; Páleníček et al. 2008a).

VII. Shrnutí výsledků a komentář publikací

Ad1) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska lokomočního chování

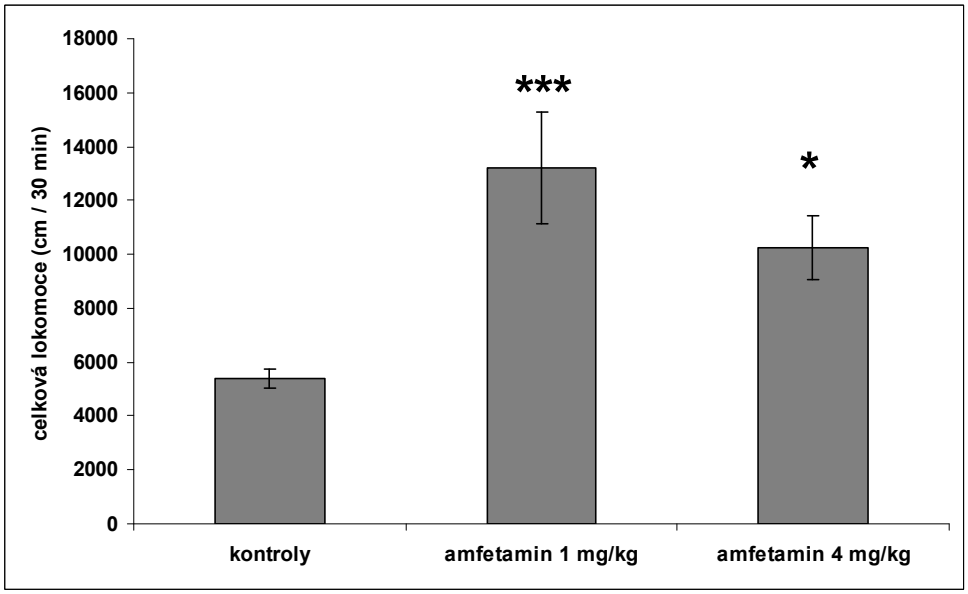
Pomocí programu Ethovision jsme hodnotili lokomoci zvířat v různých farmakologických modelech psychóz. Jako glutamátergní modely jsme použili látky MK-801 a ketamin. Jako serotonergní model jsme použili LSD, psilocin, mezkalin, 2C-B a MDMA, jako dopaminergní model pak amfetamin. Cílem těchto experimentů bylo srovnání vlivu jednotlivých modelů na lokomoci zvířat v otevřeném poli.

Všechny látky kromě LSD a ketaminu významně ovlivňovaly lokomoci zvířat (Páleníček et al. 2005a; Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2007a). NMDA antagonista MK-801 vede k výrazné hyperlokomoci zvířat a naprosté prostorové dezorganizaci lokomoce (hodnoceno mírou výskytu v jednotlivých částech arény) (Horáček et al. 2006a). Naproti tomu ketamin vyvolal pouze mírný nesignifikantní nárůst lokomoce v nejvyšší dávce (Páleníček et al. 2007c; Páleníček et al. 2008b). Halucinogeny psilocin, mezkalin a částečně i LSD naopak inhibovaly lokomoci zvířat a opět narušovaly strukturu pohybu v aréně (Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2006b; Páleníček et al. 2007a).

V případě mezkalinu nejvyšší dávka vedla k hyperlokomoci zvířat, ale současně již byla dávkou vysoce toxickou, po které zvířata již hynula (Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2006b; Páleníček et al. 2007a; Páleníček et al. 2008a). Látka 2C-B měla bifázický účinek, kdy zpočátku vedla k inhibici lokomoce zvířat, následně pak během maximálních mozkových koncentrací látky za 1 hodinu po podání (Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2006b; Páleníček et al. 2007a; Rohanová et al. 2008) vedla k projevům hyperlokomoce. Látka MDMA, která zvyšuje výdej serotoninu a méně dopaminu na synaptické štěrbině, v závislosti na dávce zvyšovala lokomoci zvířat a současně vedla ke zvýšené tigmotaxi zvířat v otevřeném poli (Páleníček et al. 2005a; Páleníček et al. 2005b; Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2006b; Páleníček et al. 2007a). Podobně amfetamin narušoval normální chování a vedl k hyperlokomoci zvířat (viz. obr. 2A) a zvýšení tigmotaxe (viz. obr. 2B) (Páleníček et al. 2007c; Páleníček et al. 2008b).

Výsledky této série experimentů byly publikovány v časopisech s IF Toxicology Letters 2008 (viz. příloha 1A), Psychopharmacology 2007 (viz. příloha 1B), Physiology & Behavior (viz. příloha 1E), CNS drugs 2005 (viz příloha 1I) a a českém recenzovaném časopise Adiktologie 2005 (viz. příloha 1M). Behaviorální účinky 2C-B byly publikovány

jako předběžná zpráva v elektronickém sborníku prací z konference ICADS/Tiaft 2007 (viz. příloha 1K) (Páleníček et al. 2005a; Páleníček et al. 2005b; Horáček et al. 2006a; Páleníček et al. 2007g; Rohanová et al. 2008; Páleníček et al. 2008a).



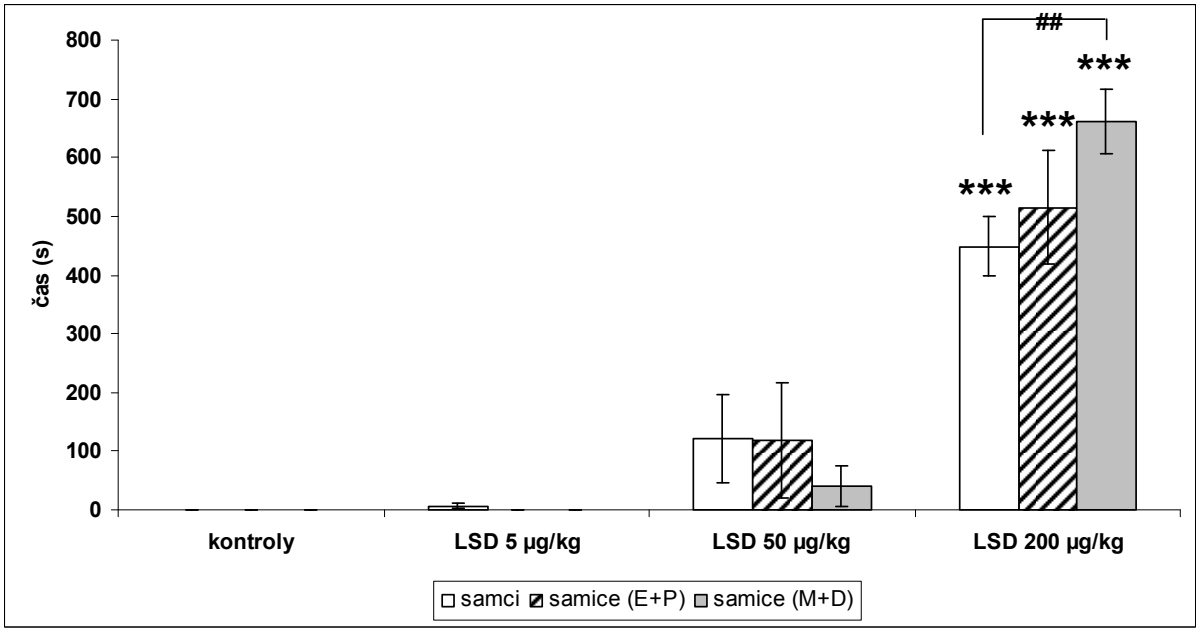
Obrázek 2A. Celková lokomoce po amfetaminu. Amfetamin vedl k hyperlokomoci * $p<0,05$ od kontrol , *** $p<0,001$ od kontrol (One Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou)

Obrázek 2B. Charakteristická struktura pohybu potkanů v otevřeném poli u kontrol a dvou různých dávek amfetaminu.

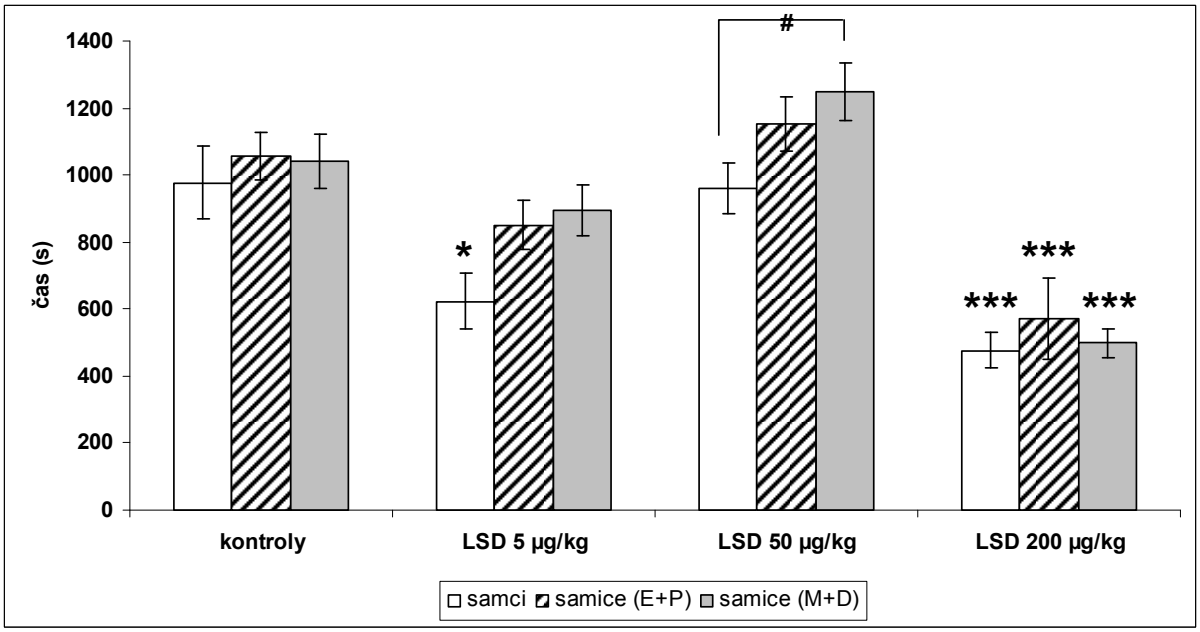
Ad2) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska chování v testu otevřeného pole

V testu otevřeného pole jsme hodnotili změny v chování zvířat v serotonergních modelech psychóz po podání LSD, psilocinu a MDMA. Všechny látky opět specifickým způsobem mění chování zvířat. V případě LSD a psilocinu, byla patrna výrazná inhibice všech behaviorálních aktivit. Potkani po těchto látkách vykazovali signifikantně více flat body posture a významný úbytek normálních prvků chování jako je sniffing, rearing a grooming a naopak nárůst imobility (pro LSD viz obr. 3A-E) (Páleníček et al. 2007e). U zvířat aplikovaných MDMA došlo naopak k nárůstu celkové lokomoce, výraznému nárůstu sniffingu, který měl až charakter stereotypního chování a k bifázickému účinku na rearing, především u samic (Páleníček et al. 2007f).

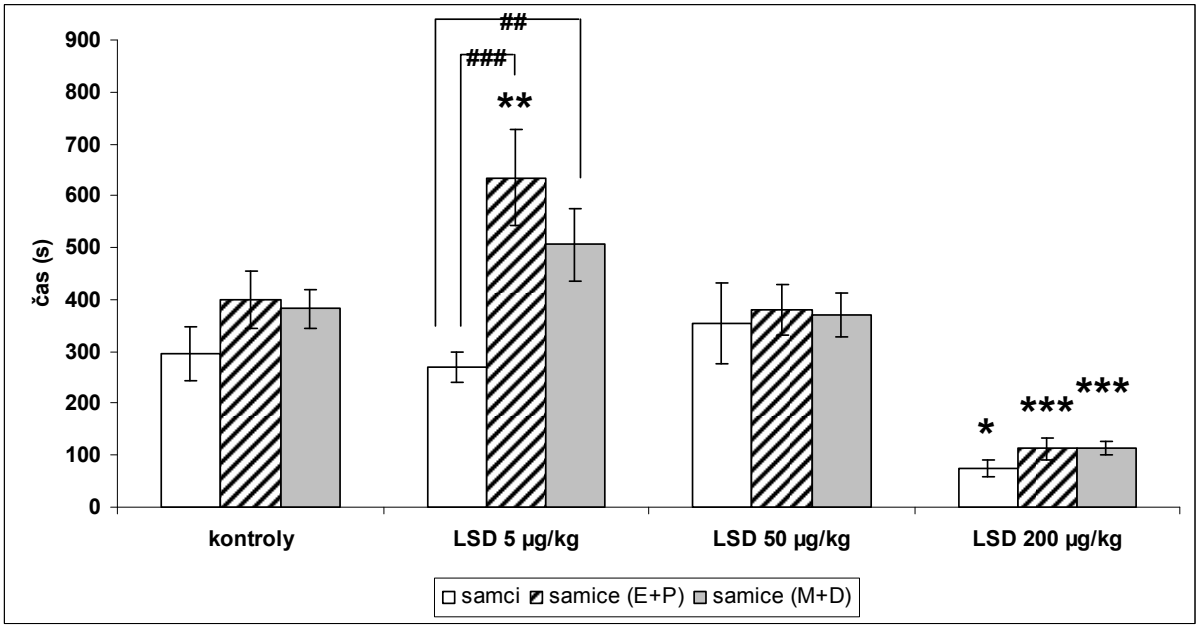
Výsledky byly publikovány v zahraničním časopise s IF Neuroendocrinology Letters 2007 (viz příloha 1C) (Páleníček et al. 2007f).



Obrázek 3A. Vliv LSD na rozvoj flat body posture u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně zvyšovalo čas strávený v tomto typu chování. *** $p<0,001$ od kontrol, ## $p<0,01$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



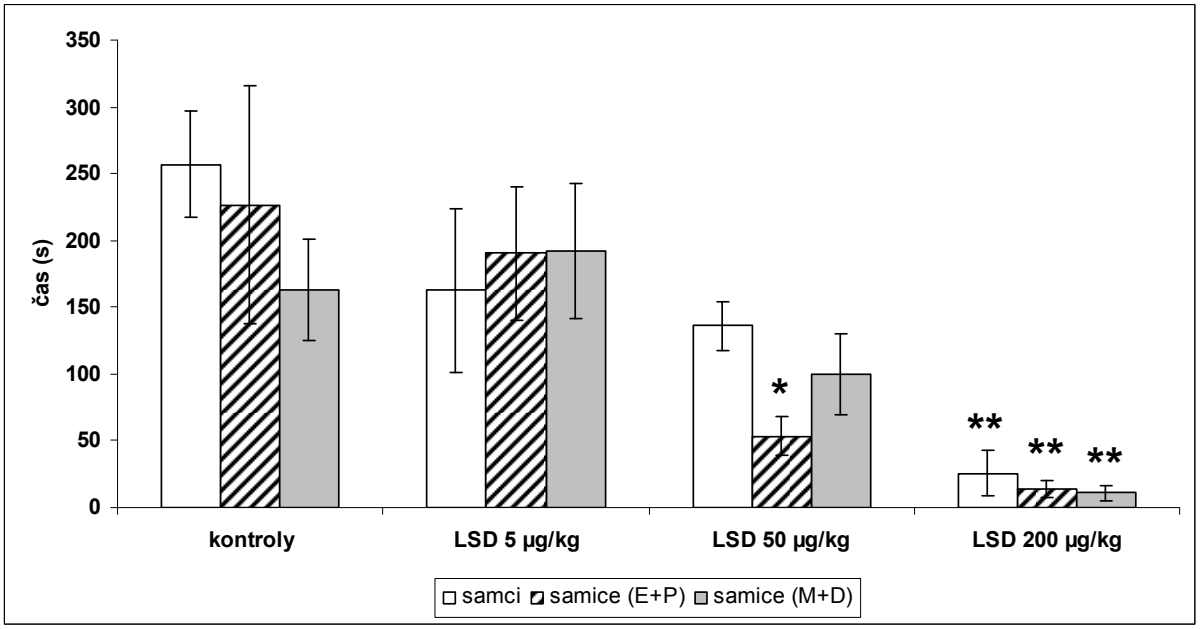
Obrázek 3B. Vliv LSD na sniffing u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně snižovalo čas strávený v tomto typu chování. * p<0,05 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol, # p<0,05 mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



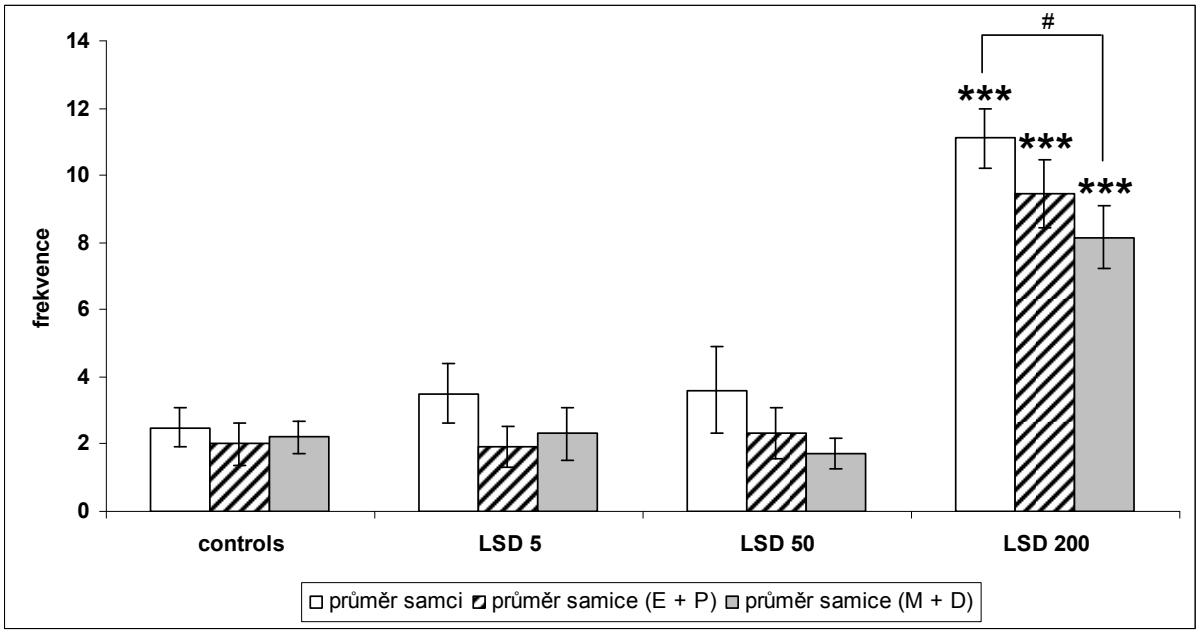
Obrázek 3C. Vliv LSD na rearing u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně snižovalo čas strávený v tomto typu chování v nejvyšší dávce, naopak v nejnižší dávce vedlo u samic k nárůstu rearingu. * p<0,05 od kontrol, ** p<0,01 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol, ## p<0,01 mezi

skupinami, ### p<0,001 mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

(pozn. Podobný efekt jsme pozorovali u MDMA (Bubeníková and Páleníček 2005; Bubeníková et al. 2005a; Páleníček et al. 2007g; Páleníček et al. 2008a)).



Obrázek 3D. Vliv LSD na grooming u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně snižovalo čas strávený v tomto typu chování. * p<0,05 od kontrol, ** p<0,01 od kontrol (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

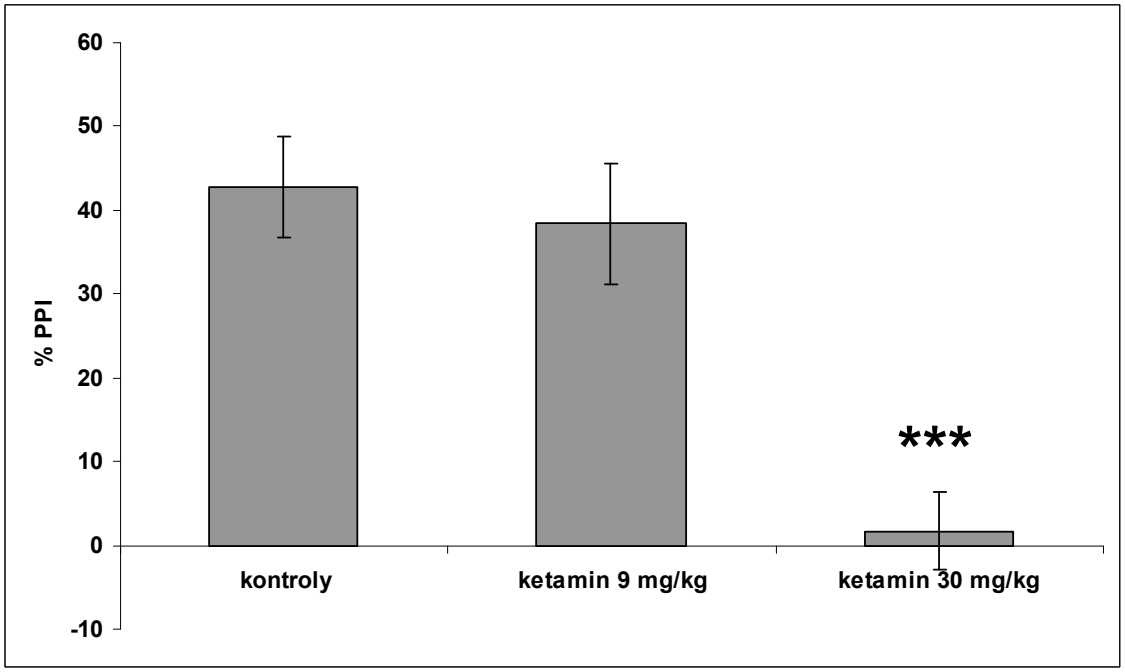


Obrázek 3E. Vliv LSD na imobilitu u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně zvyšovalo frekvenci imobility. *** $p<0,001$ od kontrol, # $p<0,05$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

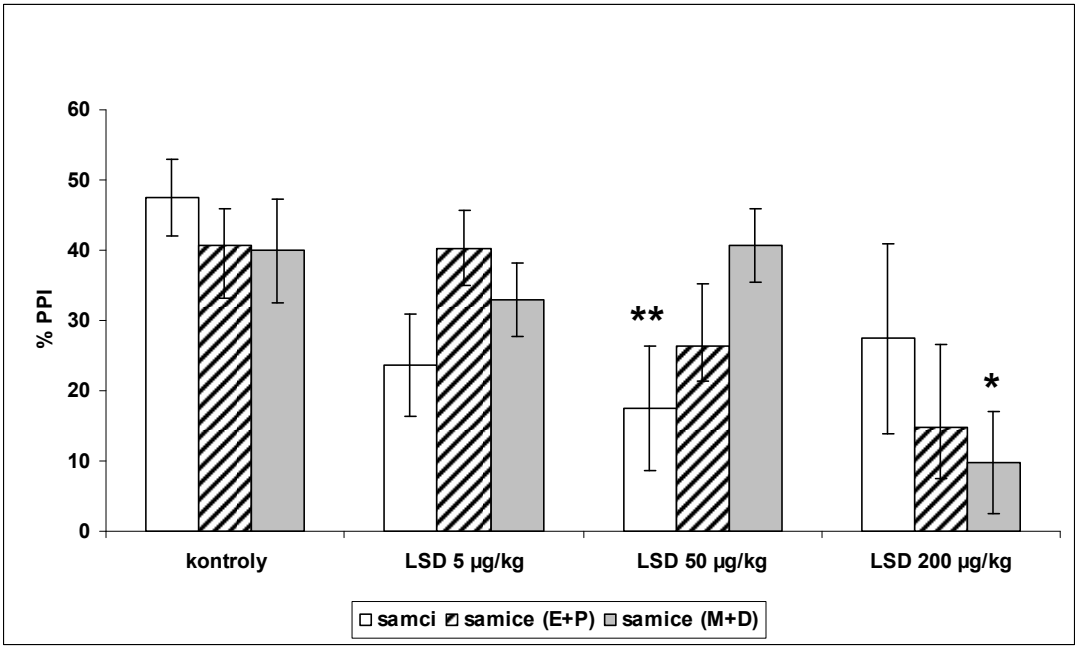
Ad3) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení prepulzní inhibice úlekové reakce

Prepulzní inhibici jsme hodnotili v glutamátergním, serotonergním i dopaminergním modelu psychóz. Látky MK-801 a ketamin (viz. obr. 4A) obě významně narušovaly PPI úlekové reakce a to bez výraznějšího vlivu na vlastní úlek (Páleníček et al. 2007a; Páleníček et al. 2007c; Páleníček et al. 2008b). Serotonergně působící psychedelika LSD (viz obr. 4B), psilocin, mezkalin a 2C-B (viz obr. 4C) opět všechna narušovala prepulzní inhibici, podobně tomu bylo v případě MDMA (Bubeníková et al. 2005a; Páleníček et al. 2006a; Páleníček et al. 2006b; Páleníček et al. 2007a). Některé z látek kromě narušení PPI také ovlivňovaly úlekovou reakci, přičemž nejtypičtěji tomu bylo u 2C-B, které významně úlekovou reakci snižovalo (viz obr. 4D) (Páleníček et al. 2007g), naopak MK-801 úlekovou reakci zvyšovalo (Bubeníková et al. 2005b). U amfetaminu se nám nepodařilo prokázat, že by v námi použitých dávkách narušoval prepulzní inhibici i když zde byl patrný mírný trend (Páleníček et al. 2007a).

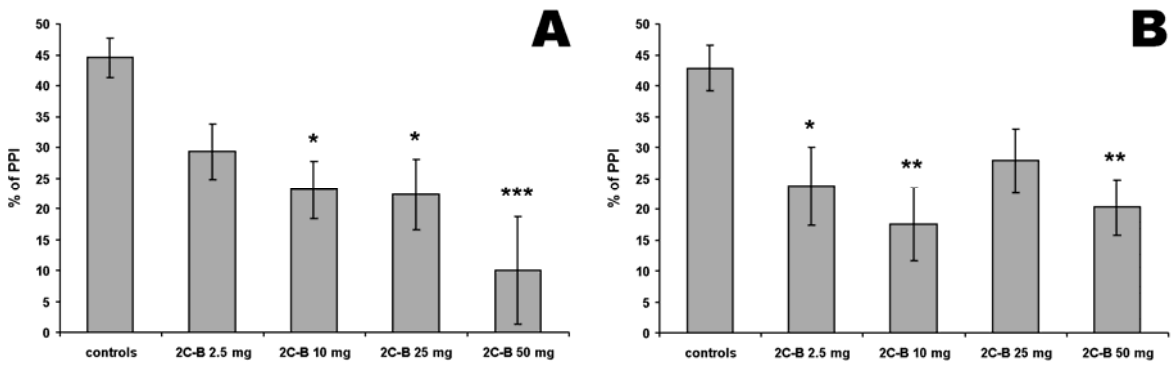
Výsledky byly publikovány v zahraničních časopisech s IF časopisech Psychopharmacology 2007 (viz. příloha 1B), Behavioural Pharmacology (viz. příloha 1F), Pharmacology Biochemistry and Behavior 2002 (viz. příloha 1G), behaviorální účinky 2C-B byly publikovány jako předběžná zpráva report v elektronickém sborníku prací z konference ICADS/Tiaft 2007 (viz příloha 1K) (Bubeníková et al. 2005a; Bubeníková et al. 2005b; Páleníček et al. 2007g; Páleníček et al. 2008a).



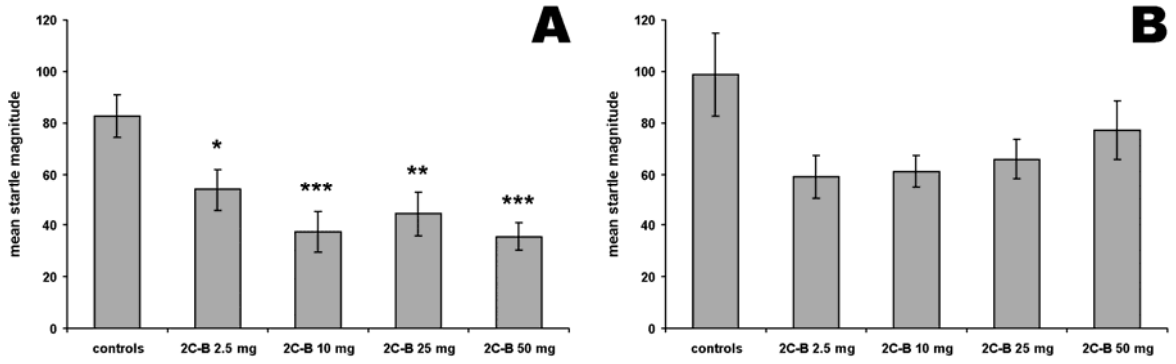
Obrázek 4A. Vliv Ketaminu na PPI ASR u samců potkana. Ketamin ve dávce 30 mg/kg významně narušoval PPI. *** p<0,001 od kontrol (One Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 4B. Vliv LSD na PPI ASR u samců a samic potkana v různých fázích estru (E+P = estrus + proestrus, M+D = metestrus + diestrus). LSD významně narušovalo PPI u samců i u samic. * p<0,05 od kontrol (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 4C. Vliv 2C-B na PPI ASR u samců potkana za 15 min po aplikaci (A) a za 60 min po aplikaci (B). 2C-B významně narušovalo PPI. * p<0,05 od kontrol, ** p<0,01 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol (One Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 4D. Vliv 2C-B na ASR u samců potkana za 15 min po aplikaci (A) a za 60 min po aplikaci (B). 2C-B významně snižovalo ASR. * p<0,05 od kontrol, ** p<0,01 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol (One Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

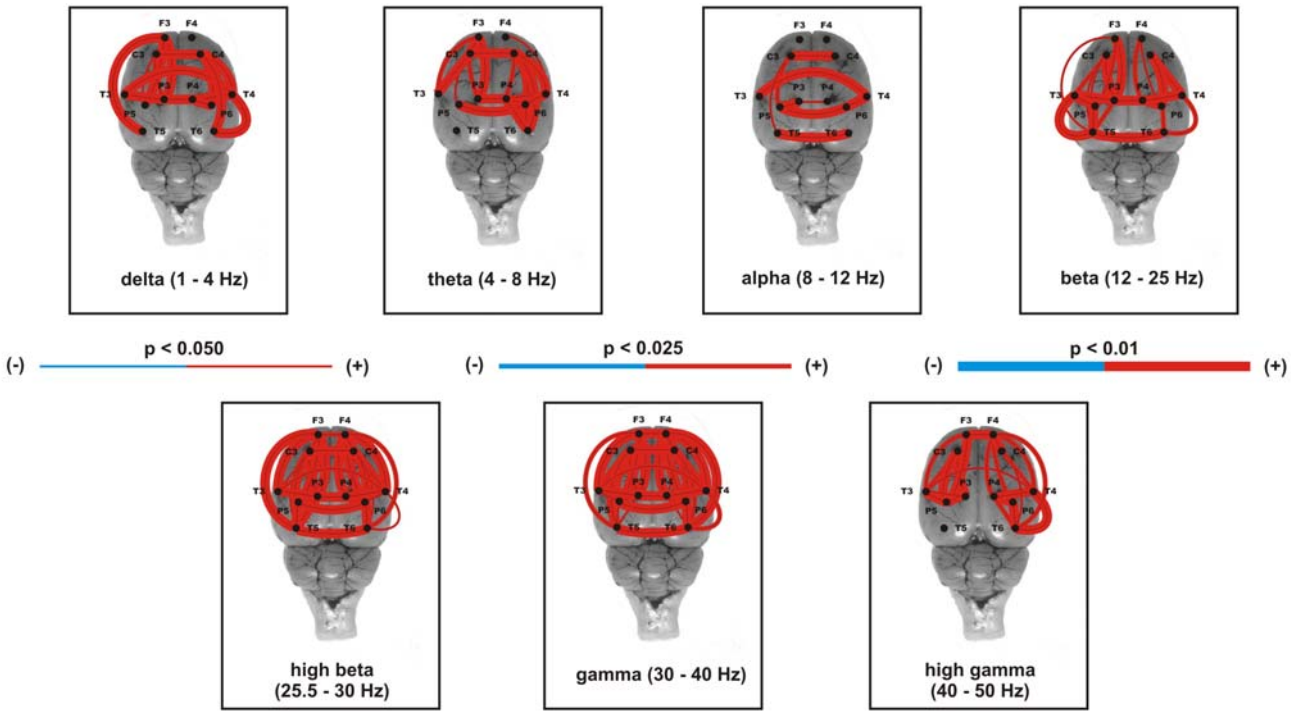
Ad4) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení kvantitativního EEG

EEG jsme hodnotili po podání ketaminu (glutamátergní model), 2C-B (serotonergní model) a amfetaminu (dopaminergní model). Hodnotili jsme jak výkonová spektra, tak míru funkční konektivity - EEG koherence. Všechny látky vedly ke změnám v EEG záznamu oproti klidovému záznamu (Páleníček et al. 2007c; Páleníček et al. 2007d; Páleníček et al. 2008b). Ketamin vedl k masivnímu nárůstu výkonu v celé šíři spektra na celém kortexu (viz tab. 2A). Současně vedl k nárůstu koherencí a to opět ve všech pásmech a téměř mezi všemi elektrodami (viz obr. 5A). Pouze na začátku účinku jsme pozorovali snížení koherencí mezi frontálními a temporálními oblastmi v delta pásmu. Na rozdíl od ketaminu amfetamin působil mnohem méně změn. Snižoval především výkon ve frekvenčním pásmu beta a vysoká beta (tab. 2B), vedl ke snížení koherencí v pásmech theta, beta, vysoká beta, gama a vysoká gama a naopak mírně zvyšoval koherence v pásmu delta a alfa (obr. 5B). 2C-B vedlo zpočátku ke snížení výkonu v pásmu beta, vysoká beta a gama, následně během maxima jeho účinku zde byl patrný i nárůst výkonu v pásmech delta a theta, přičemž nízký výkon přetrvával v pásmu vysoké bety (viz tab. 2C). 2C-B zvyšovalo koherence téměř napříč celým spektrem kromě pásma beta, kde vedlo především ke snížení interhemisferálních koherencí. Interhemisferální temporo-temporální koherence byly sníženy i v ostatních pásmech (viz obr. 5C).

Výsledky byly publikovány v časopise Psychiatrie 2007 (viz příloha 1J) (Páleníček et al. 2007c).

LEVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F3-REF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C3-REF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
P3-REF	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
P5-REF	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
T3-REF	0.000	*0.005*	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
T5-REF	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PRAVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F4-REF	0.002	*0.098*	0.000	0.000	0.001	0.002	*0.053*
C4-REF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
P4-REF	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
P6-REF	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000
T4-REF	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
T6-REF	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

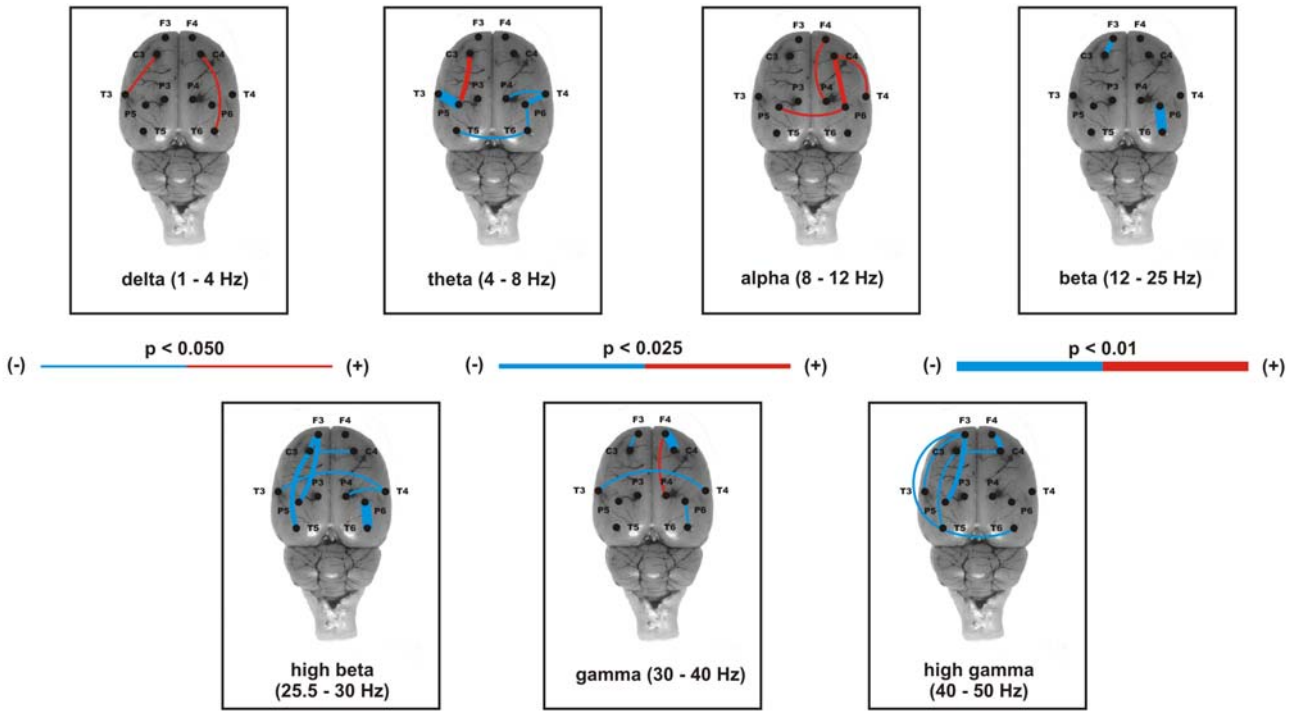
Tabulka 2A. Srovnání hodnot absolutních výkonových spekter po intraperitoneálním podání ketaminu (30 mg/kg) za 10-15 min po aplikaci vůči klidovému záznamu. Zobrazeny jsou pouze hladiny významnosti nalezených rozdílů (*p;* párový T-test). Signifikantní změny ($p < 0,05$) jsou vyznačeny barevně (zvýšení – červeně; snížení – modře). Ketamin vedl k masivnímu nárůstu výkonu na celém kortexu ve všech pásmech. Označení elektrod viz obr. 1., REF = referenční elektroda.



Obrázek 5A. Signifikantní změny intra- a inter-hemisferálních koherencí po intraperitonálním podání ketaminu (30 mg/kg) za 10-15 min po aplikaci ve srovnání s kontrolním záznamem. Modrá barva vyznačuje snížení koherencí, červená zvýšení koherencí. Ketamin vedl k masivnímu nárůstu koherencí téměř mezi všemi elektrodovými páry napříč EEG spektrem. Statistickou významnost nalezených změn (*p;* párový T-test) určuje tloušťka čáry dle znázornění ve střední části obrázku.

LEVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F3-REF	0.194	0.922	0.912	0.223	0.953	0.394	0.742
C3-REF	0.075	**0.037**	0.626	**0.003**	0.213	0.963	0.562
P3-REF	0.334	0.842	0.342	0.114	0.100	0.605	0.280
P5-REF	0.261	0.446	0.251	**0.009**	**0.020**	0.829	0.540
T3-REF	0.283	0.157	0.512	**0.032**	0.248	0.850	0.848
T5-REF	0.164	0.828	0.658	0.195	0.704	0.212	0.410
PRAVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F4-REF	0.089	0.797	0.937	**0.031**	**0.002**	0.232	0.898
C4-REF	0.483	**0.006**	0.075	**0.002**	0.070	0.843	0.883
P4-REF	0.166	0.905	0.420	0.139	0.103	0.228	0.436
P6-REF	0.259	0.354	0.298	**0.009**	**0.030**	0.315	0.228
T4-REF	0.080	0.879	0.940	**0.035**	0.248	0.877	0.785
T6-REF	**0.018**	0.348	0.544	0.448	0.735	0.383	0.693

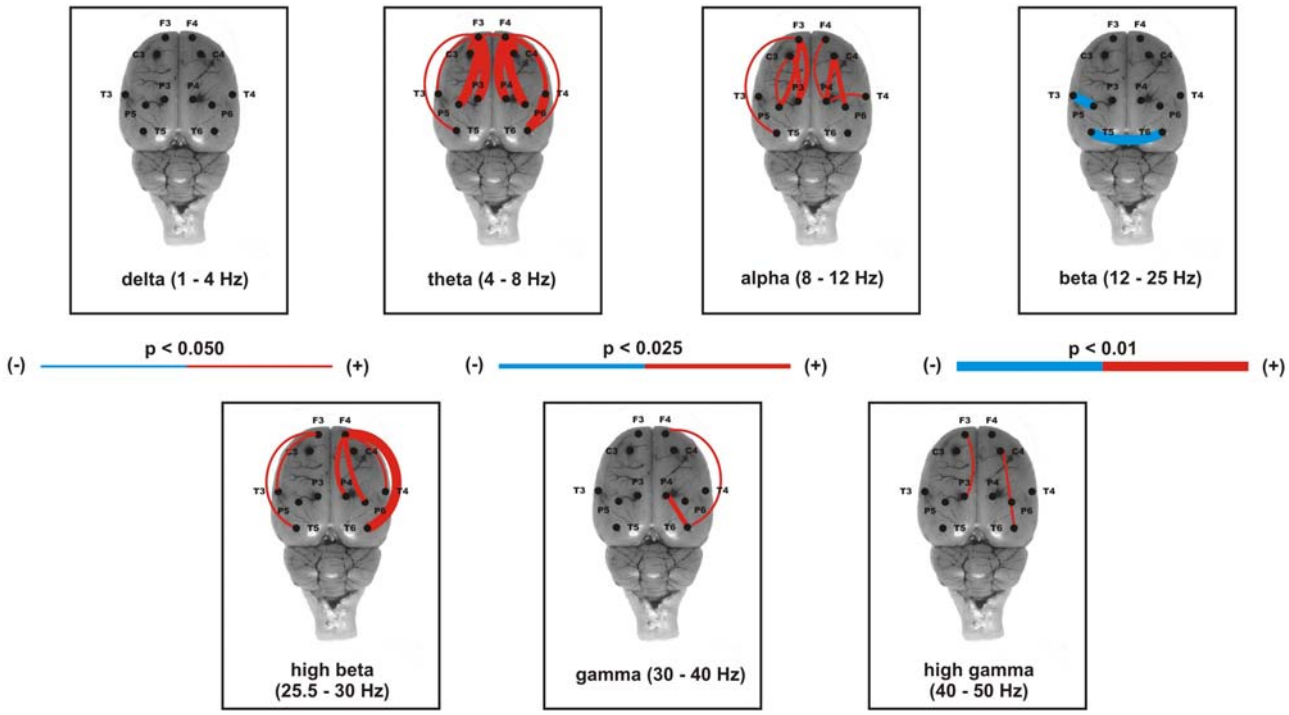
Tabulka 2B. Srovnání hodnot absolutních spekter po subkutánním podání amfetaminu (4 mg/kg) za 20-25 min po aplikaci vůči klidovému záznamu. Zobrazeny jsou pouze hladiny významnosti nalezených rozdílů (*p;* párový T-test). Signifikantní změny ($p < 0,05$) jsou vyznačeny barevně (zvýšení – červeně; snížení – modře). Amfetamin především snižoval výkon v pásmu beta a vysoká beta, dále pak v pásmu theta nad motorickou oblastí. Označení elektrod viz obr. 1., REF = referenční elektroda.



Obrázek 5B. Signifikantní změny intra- a inter-hemisferálních koherencí po subkutánním podání amfetaminu (4 mg/kg) za 20-25 min po aplikaci ve srovnání s kontrolním záznamem. Modrá barva vyznačuje snížení koherencí, červená zvýšení koherencí. Amfetamin snižoval koherence zejména v pásmu theta, beta, vysoké beta, gama a vysoká gama, dále mírně zvyšoval koherence v pásmu delta a alfa. Statistickou významnost nalezených změn (*p;* párový T-test) určuje tloušťka čáry dle znázornění ve střední části obrázku.

LEVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F3-REF	0.038	0.006	0.216	0.727	0.200	0.672	0.872
C3-REF	0.008	0.004	0.268	0.428	0.049	0.347	0.702
P3-REF	0.034	0.001	0.487	0.263	0.035	0.228	0.365
P5-REF	0.019	0.000	0.226	0.886	0.050	0.404	0.358
T3-REF	0.006	0.001	0.047	0.076	0.862	0.375	0.600
T5-REF	0.009	0.000	0.007	0.474	0.204	0.818	0.441
PRAVÁ	DELTA	THETA	ALFA	BETA	VYSOKÁ BETA	GAMA	VYSOKÁ GAMA
F4-REF	0.054	0.009	0.200	0.738	0.521	0.625	0.215
C4-REF	0.013	0.002	0.428	0.267	0.037	0.255	0.855
P4-REF	0.031	0.000	0.458	0.262	0.006	0.144	0.337
P6-REF	0.017	0.000	0.183	0.953	0.006	0.235	0.420
T4-REF	0.015	0.001	0.031	0.049	0.716	0.758	0.513
T6-REF	0.007	0.000	0.004	0.219	0.262	0.779	0.452

Tabulka 2C. Srovnání hodnot absolutních spekter po subkutánním podání 2C-B (50 mg/kg) za 55-60 min po aplikaci vůči klidovému záznamu. Zobrazeny jsou pouze hladiny významnosti nalezených rozdílů (*p;* párový T-test). Signifikantní změny ($p < 0,05$) jsou vyznačeny barevně (zvýšení – červeně; snížení – modře). 2C-B zvyšovalo výkon v pomalých částech spektra, naopak snižovalo výkon v pásmu vysoké bety. Označení elektrod viz obr. 1., REF = referenční elektroda.



Obrázek 5C. Signifikantní změny intra- a inter-hemisferálních koherencí po subkutánním podání 2C-B (50 mg/kg) za 55-60 min po aplikaci ve srovnání s kontrolním záznamem. Modrá barva vyznačuje snížení koherencí, červená zvýšení koherencí. 2C-B zvyšovalo především intra-hemisferální koherence v pásmu theta, alfa, vysoká beta, gama a vysoká gama, současně snižovalo koherence interhemisferální temporo-temporální v pásmu beta. Statistickou významnost nalezených změn (*p;* párový T-test) určuje tloušťka čáry dle znázornění ve střední části obrázku.

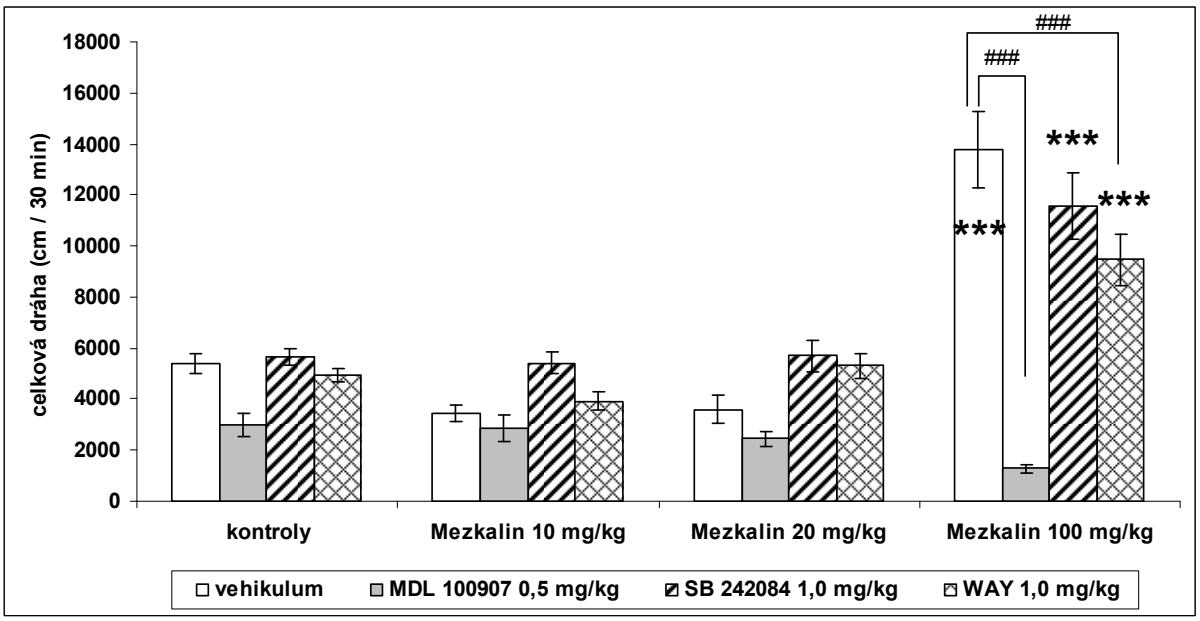
Ad5) Srovnání role různých podtypů serotoninových a dopaminových receptorů v mechanizmu změn zjištěných v námi použitých animálních modelech psychóz za pomoci selektivních ligandů receptorů a antipsychotik.

Hodnotili jsme vliv selektivních agonistů a antagonistů serotoninových a dopaminových receptorů na změny v chování zvířat v jednotlivých modelech psychóz. Zaměřili jsme se především na serotoninové 5-$HT_{2A/C}$ a 5-HT_{1A} a dopaminové D_2 receptory. V modelu s MK-801 antagonista serotoninových 5-$HT_{2A/C}$ receptorů ritanserin antagonizoval behaviorální účinky MK-801 a to jak v lokomočních experimentech, tak i v testu prepulzní inhibice úlekové reakce. Naproti tomu látka SB-242084, selektivní antagonista 5-HT_{2C} receptorů na PPI vliv neměl a naopak potencoval hyperlokomoci zvířat po MK-801 (Páleníček et al. 2003b; Bubeníková and Páleníček 2005; Páleníček and Bubeníková-Valešová 2005). Látka 8-OH-DPAT, selektivní agonista serotoninových 5-HT_{1A} receptorů, měla opačný účinek v závislosti na použité dávce. V nízké dávce, která má preferenční vliv na presynaptické inhibiční autoreceptory (aktivace snižuje výdej serotoninu ze zakončení), vedla k úpravě chování zvířat po MK-801, naopak ve vysoké dávce, která ovlivňuje jak presynaptické tak i postsynaptické receptory potencovala účinky MK-801 (Bubeníková-Valešová et al. 2007).

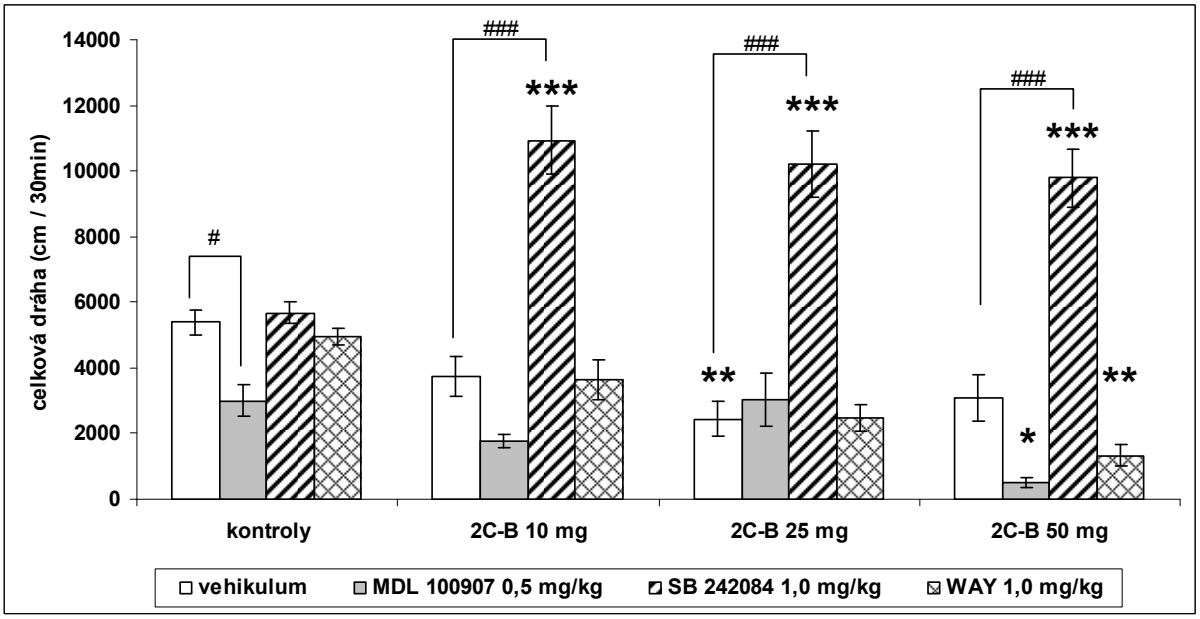
V dalším experimentu jsme sledovali vliv D_2 antagonisty haloperidolu na hyperlokomoci po MK-801. Zjistili jsme, že haloperidol efekt MK-801 blokoval, dokonce navodil hypolokomoci a velmi suspektně katalepsii (model extrapyramidových příznaků) (Páleníček et al. 2003a; Páleníček et al. 2003b; Páleníček et al. 2004a). Dále jsme sledovali vliv serotonin-dopaminových antipsychotik risperidonu a zotepinu (antagonisté 5-HT_{2A} a D_2 receptorů) a vliv MARTA (multi acting receptor targeted antipsychotics) antipsychotik klozapinu a olanzapinu na PPI po MK-801. Zatímco klozapin a olanzapin byli schopni antagonizovat účinky MK-801, risperidon a zotepin deficit v PPI neupravili. V dalším experimentu jsme sledovali vliv haloperidolu, antagonisty dopaminových D_2 receptorů a diety s deplecí tryptofanu (vede k depleci serotoninu v CNS) na lokomoční změny po MK-801. Samotná beztryptofanová dieta naopak potencovala hyperlokomoční účinky MK-801. Deplece serotoninu navozená dietou bez tryptofanu však společně s blokádou D_2 receptorů vedla k normalizaci lokomoce i ve srovnání s kontrolními zvířaty (Bubeníková et al. 2004; Bubeníková et al. 2005b). V serotoninových modelech s psilocinem, mezkalinem a 2C-B selektivní antagonista 5-HT_{2A} receptorů, látka MDL-100907, antagonizoval deficity v PPI, a měl minimální vliv na změny v lokomoci indukované po podání těchto látek. Jedinou

výjimkou byla hyperlokomoce po nejvyšší dávce mezkalinu, kterou tento antagonista plně potlačil. Podobný efekt jsme prokázali v těchto experimentech u ritanserinu. Naopak selektivní antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 neměl vliv na PPI u těchto látek; na druhou stranu antagonizoval hypolokomoční účinek většiny serotonergně působících psychedelik, dokonce u 2C-B zvrátil jeho hypolokomoční účinek a jeho podání vedlo k hyperlokomoci. Antagonista 5-HT_{1A} receptorů WAY-100635 neměl výrazný vliv na sledované parametry lokomoce ani PPI v těchto modelech až na to, že parciálně antagonizoval hyperlokomoci navozenou nejvyšší dávkou mezkalinu. V modelu s 2C-B jsme v době jeho maximálních koncentrací v mozku hodnotili navíc i vliv blokády D_2 receptorů pomocí haloperidolu; zjistili jsme, že haloperidol blokoval jak hyperlokomoci navozenou 2C-B, dokonce vedl až k rozvoji katalepsie, současně také parciálně blokoval deficit v testu PPI (viz obr. 6A-F) (Páleníček et al. 2006d; Kutová et al. 2007; Páleníček et al. 2007b; Kutová et al. 2008).

Výsledky byly publikovány v zahraničních časopisech s IF a v českém recenzovaném časopise Neuropharmacology 2007 (viz příloha 1D), Pharmacology, Biochemistry and Behavior 2005 (viz příloha 1G), European Journal of Pharmacology 2004 (viz příloha 1H), Psychiatrie 2003, 2005 a 2006 (viz příloha 1L, N a O) (Páleníček et al. 2003a; Bubeníková et al. 2004; Bubeníková and Páleníček 2005; Bubeníková et al. 2005b; Páleníček et al. 2006c; Bubeníková-Valešová et al. 2007).

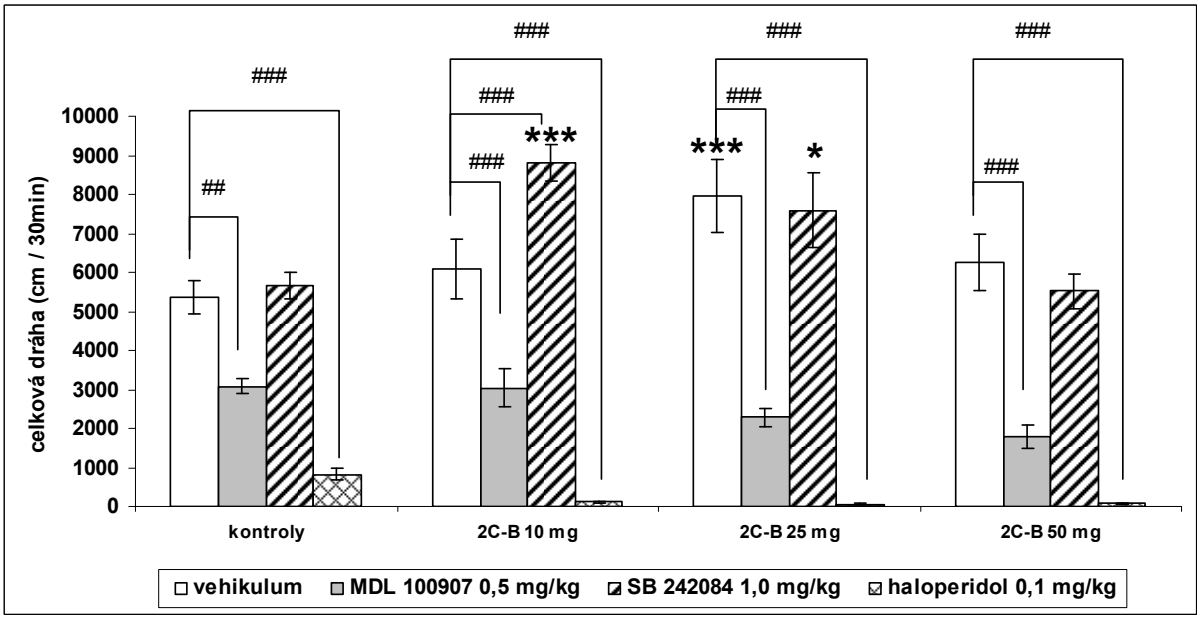


Obrázek 6A. Vliv antagonistů serotoninových receptorů na změny v lokomoci navozené mezkalinem. Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 zcela antagonizoval hyperlokomoci po mezkalinu podobně antagonizoval hyperlokomoci 5-HT_{1A} antagonista WAY-100635. *** $p<0,001$ od kontrol, ### $p<0,01$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

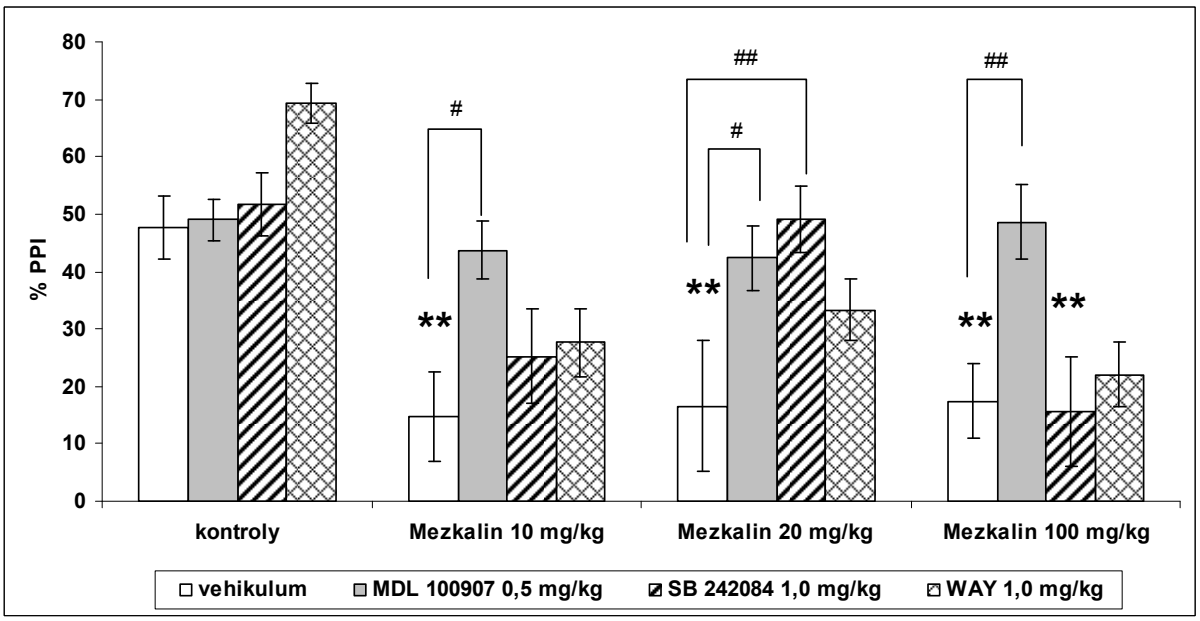


Obrázek 6B. Vliv antagonistů serotoninových receptorů na hypolokomoci navozenou 2C-B (za 15 min po aplikaci 2C-B). Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 ani antagnoista 5-HT_{1A} receptorů neměli na hypolokomoci vliv, dokonce mírně potencovali hypolokomoční účinek. Antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 naopak zabránil rozvoji hypolokomoce a

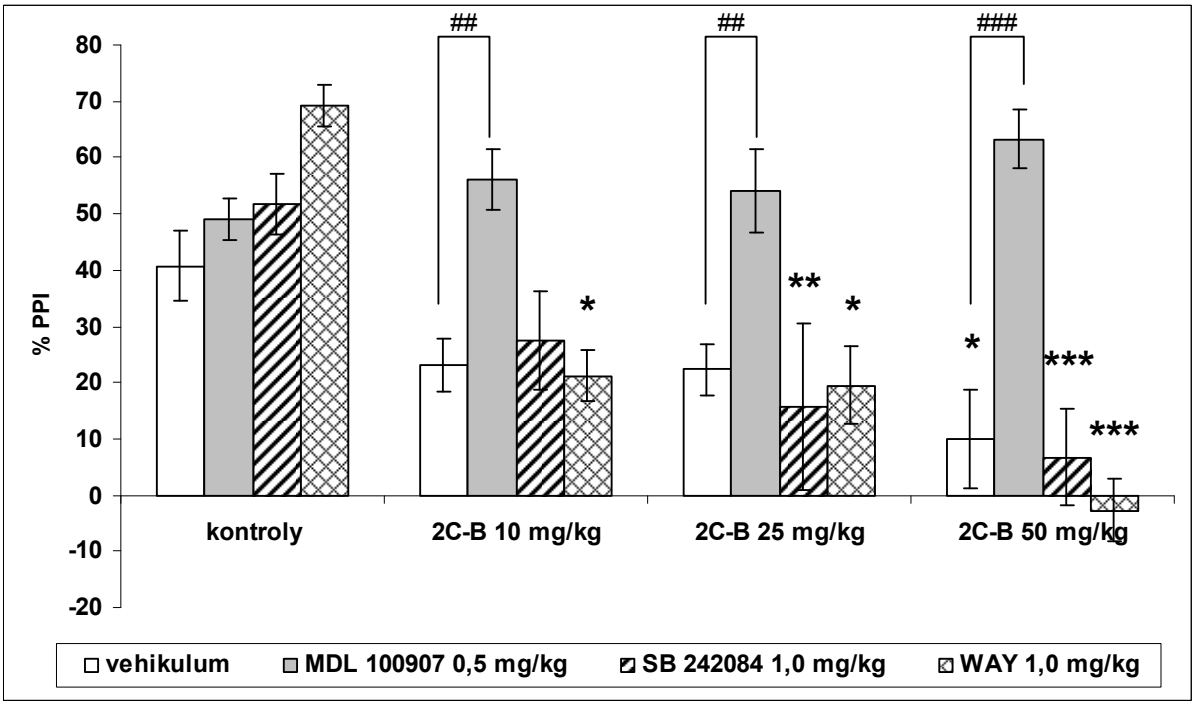
současně navodil hyperlokomoci ve srovnání s kontrolními zvířaty. * p<0,05 od kontrol, ** p<0,01 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol, ## p<0,01** p<0,01 od kontrol, *** p<0,001 od kontrol, ### p<0,001 mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



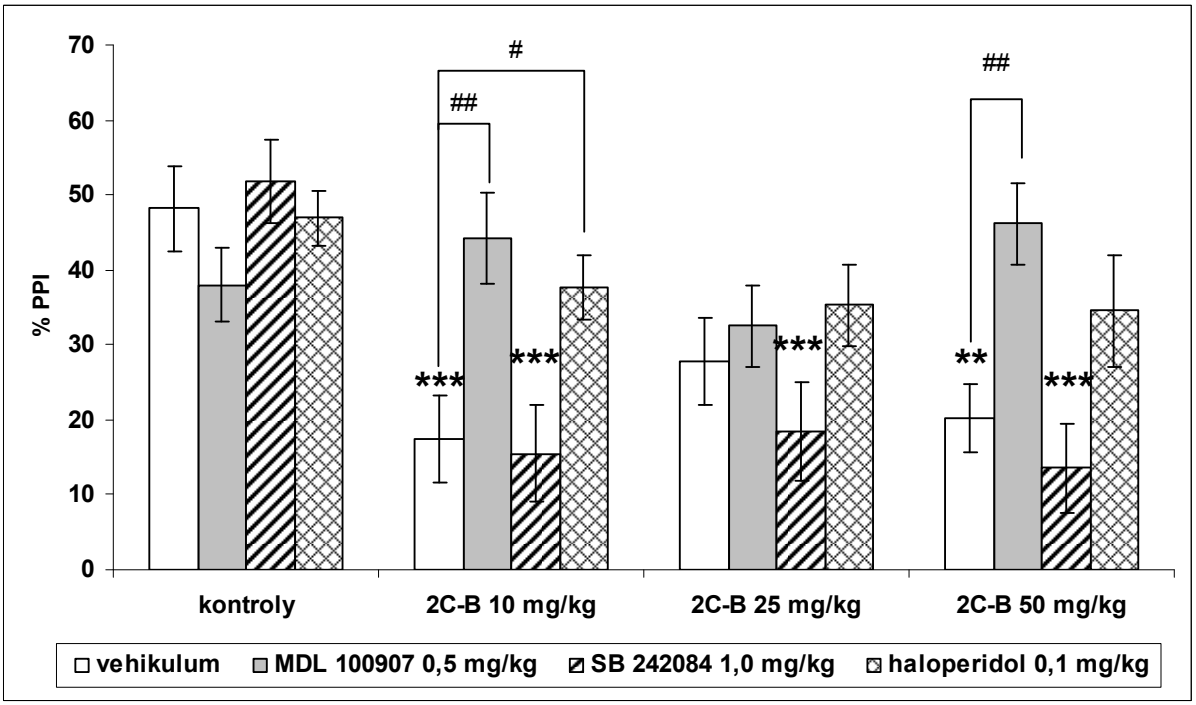
Obrázek 6C. Vliv antagonistů serotoninových a dopaminových receptorů na hyperlokomoci navozenou 2C-B (za 60 min po aplikaci 2C-B). Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 a antagonista D_2 receptorů haloperidol blokovali rozvoj hyperlokomoce po 2C-B. Antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 mírně potencoval hyperlokomoci po 2C-B. * p<0,05, *** p<0,001 od kontrol, ## p<0,01, ### p<0,001 mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 6D. Vliv antagonistů serotoninových receptorů na deficit PPI ASR navozený mezkalinem. Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 antagonizoval deficit navozený mezkalinem, současně antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 antagonizoval deficit u dávky 20 mg/kg mezkalinu, antagonista 5-HT_{1A} receptorů WAY-100635 neměl na deficit vliv. ** $p<0,01$ od kontrol, # $p<0,05$ mezi skupinami, ## $p<0,01$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 6E. Vliv antagonistů serotoninových receptorů na deficit PPI ASR navozený 2C-B (za 15 min po aplikaci 2C-B). Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 antagonizoval deficit navozený 2C-B, antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 ani antagonista 5-HT_{1A} receptorů WAY-100635 neměli na deficit významný vliv. * $p<0,05$ od kontrol, ** $p<0,01$ od kontrol, *** $p<0,001$ od kontrol, ## $p<0,01$ mezi skupinami, ### $p<0,001$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).



Obrázek 6F. Vliv antagonistů serotoninových receptorů na deficit PPI ASR navozený 2C-B (za 60 min po aplikaci 2C-B). Antagonista 5-HT_{2A} receptorů MDL-100907 antagonizoval deficit navozený 2C-B, méně významně pak byl deficit zablokován pomocí D_2 antagonisty haloperidolu. Antagonista 5-HT_{2C} receptorů SB-242084 neměl na deficit významný vliv. ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ od kontrol, # $p<0,05$, ## $p<0,01$, ### $p<0,001$ mezi skupinami (Two Way ANOVA s Bonferroni post hoc analýzou).

VIII. Shrnutí výsledků disertační práce

Práce byla zaměřena na hodnocení role serotonergní a dopaminergní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie. V první části jsme se soustředili na popsání změn v chování, ke kterým dochází v jednotlivých modelech psychóz (glutamátergním, serotonergním a dopaminergním). bydlo zejména o vliv na lokomoční aktivitu, behaviorální prvky, senzorimotorické zpracování informací (měřeno pomocí PPI ASR) a elektroencefalografické změny. V dalším kroku jsme v těchto modelech sledovali vliv látek ovlivňujících přímo serotonergní a dopaminergní neurotransmisi; zaměřili jsme se především na roli dopaminových D_2 receptorů a na roli serotoninových 5-$HT_{2A/C}$ a 5-HT_{1A} receptorů.

Glutamátergní model

Zjistili jsme, že NMDA antagonisté významným způsobem mění lokomoci a vedou k deficitu zpracování informací. Lokomoce byla změněna především v modelu s MK-801; látka vedla jak k hyperlokomoci tak i k dezorganizaci lokomoce v otevřeném poli. U ketaminu byly změny z hlediska lokomoce minimální. V testu prepulzní inhibice (PPI) obě látky významně působily deficit inhibice, v případě MK-801 došlo i ke zvýšení úlekové reakce (ASR). Změny v lokomoci i PPI byly ovlivněny jak dopaminergně tak i serotonergně působícími látkami. Prokázali jsme roli dopaminových D_2 a serotoninových 5-HT_{1A}, 5-$HT_{2A/C}$ receptorů a roli deplece serotoninu při normalizaci nebo potenciaci účinků MK-801. V elektroencefalografických měřeních, kde jsme hodnotili změny indukované ketaminem, jsme prokázali významný nárůst výkonu napříč celým spektrem nad celým kortexem a současně významné zvýšení koherencí téměř mezi všemi elektrodami.

Serotonergní model

V našich experimentech jsme zjistili, že serotonergně působící psychedelika indukují jak hyperlokomoci, tak hypolokomoci popř. mají bifázický účinek. Současně všechny serotonergně působící psychedelika látky narušovaly senzorimotorické zpracování informací a v případě některých látek došlo i k ovlivnění vlastní úlekové reakce. Současně tyto látky vedly i k dezorganizaci ostatních prvků chování v testu otevřeného pole. Antagonisté serotoninových receptorů byli schopni ovlivnit většinu ze sledovaných parametrů. Deficit v PPI byl zcela normalizován po podání antagonistů serotoninových 5-HT_{2A} receptorů. Podobně tomu bylo v případě hyperlokomočních účinků. Naopak hypolokomoce byla

antagonizována antagonistou 5-HT_{2C} receptorů. Roli 5-HT_{1A} receptorů jsme prokázali pouze v hyperlokomoci po nejvyšší dávce mezkalinu. Blokáda D_2 receptorů pomocí haloperidolu v modelu s 2C-B veda k parciálnímu zlepšení deficitu v PPI a současně zcela zablokovala hyperlokomoci po 2C-B a indukovala kataplexii. Z hlediska změn v EEG jsme pozorovali po 2C-B nárůst výkonu v pomalých částech spektra delta a theta při současném snížení v pásmech beta. Současně jsme pozorovali nárůst koherencí téměř napříč celým spektrem, a to zejména mezi frontálními a parieto-temporálními oblastmi a snížení koherencí interhemisferálních temporo-temporálních v pásmu beta.

Dopaminergní model

Amfetamin v našich experimentech vyvolával jednak hyperlokomoci a jednak v nižší dávce vedl k výrazné prostorové dezorganizaci a ve vyšší dávce k výrazné tigmotaxi. Z hlediska prepulzní inhibice jsme neprokázali jeho účinek. V EEG záznamu amfetamin snižoval výkon v pásmech beta a vysoká beta, snižoval koherence zejména ve vyšších částech spektra (beta, vysoká beta, gama a vysoká gama) a působil mírný nárůst koherencí v nejvíce vyjádřených pásmech delta a alfa.

IX. Závěr

V této práci jsem prezentoval výsledky našich studií zaměřených na animální modely psychóz. Ve farmakologických modelech jsme hodnotili parametry chování a elektrofyziologické koreláty, které podléhají ovlivnění přímou modifikací serotonergní a dopaminergní neurotransmise.

Hyperlokomoce jakožto produktivní chování je považována za model pozitivních příznaků psychózy (Tiedtke et al. 1990;Carlsson 1995;Andine et al. 1999). Podobně dezorganizace lokomoční aktivity v prostoru a normálního chování zvířat v otevřeném poli včetně výskytu stereotypií je považováno za model pozitivních příznaků (Tiedtke et al. 1990;Carlsson 1995;Andine et al. 1999). Z našich experimentů vyplývá, že jak model glutamátergní tak model dopaminergní vedou k indukci hyperlokomoce přičemž oba modely současně narušují i prostorové chování zvířat (dezorganizace pohybu uvnitř arény). V případě serotonergního modelu jsme však hyperlokomoci pozorovali pouze po 2C-B a mezkalinu, tedy po fenyletylaminových halucinogenech, naopak po tryptaminovém halucinogenu psilocinu a ergolinovém halucinogenu LSD jsme hyperlokomoci nepozorovali. Hyperlokomoce byla také indukována pomocí serotonin-dopaminového mimetika, látky MDMA. Prostorové chování zvířat bylo v serotonergních modelech také narušeno čímž se tyto modely částečně shodovaly s dopaminergním a glutamátergním modelem. Z fenomenologického hlediska lze tedy shrnout, ze hyperlokomoce jakožto model pozitivních příznaků je indukována především v dopaminergním a glutamátergním modelu ze serotonergních modelů pak v modelu s 2C-B, mezkalinem a MDMA

Dezorganizace chování zvířat v testu otevřeného pole je odrazem narušení explorace, orientace a normálního habituačního chování. V závislosti na typu a kvantitě pozorovaných změn, můžeme také hovořit o stimulaci, inhibici či vzniku stereotypií či jiných atypických prvků chování. Zejména stereotypie jsou opět považovány za jeden z modelů pozitivních příznaků (Tiedtke et al. 1990;Andine et al. 1999;Kelley 2001). Z tohoto hlediska jsme studovali serotonergní modely psychóz s LSD a psilocinem v nichž jsme pozorovali zejména výskyt atypických prvků chování a celkovou inhibici normálního chování a model s látkou MDMA, po které jsme pozorovali především nárůst rearingu u samic a u obou pohlaví nárůst lokomoce se stereotypním čenicháním. Výskyt stereotypního chování po MDMA tedy může být modelem pozitivních příznaků psychóz. Z jiných prací je zřejmé, že v glutamátergím a dopaminergním modelu jsou také přítomny stereotypní prvky chování (Ford et al.

1989;Tiedtke et al. 1990). Na základě výskytu stereotypního chování v jednotlivých modelech můžeme shrnout, že vhodnějšími modely jsou modely glutamátergní a dopaminergní, eventuelně model s MDMA než-li modely s serotonergní.

Narušení prepulzní inhibice úlekové reakce je projevem poruchy senzorimotorického zpracování informací - gatingu. Jak již bylo zmíněno v úvodu, tato reakce je vývojově velmi stará a je možno ji hodnotit podobným způsobem jak u lidí tak u potkanů. U lidí bývá tato reakce typicky narušena u schizofrenních pacientů (Swerdlow and Geyer 1998;Vollenweider and Geyer 2001;Geyer et al. 2001). V našich experimentech jsme potvrdili, že v modelech glutamátergním a serotonergním dochází k narušení prepulzní inhibice úlekové reakce, nepodařilo se nám tento efekt prokázat u modelu dopaminového. Z těchto zjištění vyplývá, že modely glutamátergní a serotonergní jsou vhodnější pro měření tohoto parametru než-li model dopaminergní.

V další části našich experimentů jsme se zaměřili na to, jakým způsobem výše popsané farmakologické modely mění parametry kvantitativního EEG potkana. Hodnotili jsme vliv jednotlivých modelů na EEG spektra (delta až vysoká gama) a EEG koherence potkana z 12 kortikálních svodů. Doposud nebyly v literatuře publikovány obdobné animální experimenty, jedná se tedy o první experiment tohoto rozsahu. Spektrální analýza prokázala globální nárůst výkonu nad celým kortexem a napříč spektrem v glutamátergním modelu, v serotonergním modelu pak nárůst pomalovlných aktivit a snížení výkonu v pásmu vysoká beta, v dopaminergním modelu pak snížení výkonu v pásmech beta. V glutamátergním modelu jsme zjistili masivní nárůst koherencí mezi všemi elektrodami napříč spektrem, v dopaminergním modelu pak mírný nárůst koherencí v pásmech delta a alfa a naopak snížení koherencí ve všech ostatních pásmech, v modelu serotonergním jsme pozorovali nárůst koherencí ve všech pásmech kromě pásma beta. U schizofrenie byla pomocí elektroencefalografie prokázána celá řada abnormalit a to jak ve vztahu k pozitivní (bludy, halucinace) tak i negativní (oploštěná afektivita, kognitivní dysfunkce) symptomatologii, nicméně zjištěná data jsou doposud nekonzistentní. Vzhledem k tomu, že z behaviorálního hlediska je nejvhodnějším použitým modelem model glutamátergní, použili jsme tento model k formulaci hypotéz, které budeme dále testovat jak v animálních tak v humánních modelech psychóz.

V experimentech s použitím specifických antagonistů jsme se zaměřili především na roli dopaminových D_2 a serotoninových 5-HT_{1A} a 5-$HT2_{A/C}$ receptorů v mechanismu účinku behaviorálních změn v modelu glutamátergním a serotonergním.

Sledovali jsme vliv antagonistů těchto receptorů na indukované změny v lokomočních experimentech a v testu prepulzní inhibice úlekové reakce. Hyperlokomoční změny ve všech modelech obecně byly antagonizovány blokádou dopaminových D_2 receptorů a blokádou serotoninových 5-HT_{2A} receptorů. Blokáda D_2 receptorů vedla však až k výrazné inhibici lokomoce a k indukci katalepsie (model extrapyramidových příznaků) v obou použitých modelech. V modelu glutamátergním měla lepší efektivitu než-li samotná blokáda jednotlivých podtypů receptorů kombinovaná blokáda dopaminových D_2 receptorů s deplecí serotoninu navozenou pomocí tryptofanové deplece. Blokáda 5-HT_{2C} receptorů potencovala hyperlokomoci v obou modelech, naproti tomu byla schopna antagonizovat iniciální hypolokomoci v serotonergních modelech. Pro upravení deficitu v testu PPI se v glutamátergním modelu nejlépe osvědčila blokáda pomocí MARTA antipsychotik klozapinu a olanzapinu. V modelu serotonergním jsme zjistili, že deficit v senzorimotorickém zpracování je zcela blokovatelný především antagonistou 5-HT_{2A} receptorů. Blokáda D_2 receptorů parciálně blokovala deficit v PPI v modelu s 2C-B. Antagonismus 5-HT_{2C} receptorů neměl žádný efekt na navozený deficit v žádném z modelů. Roli 5-HT_{1A} receptorů s použitím selektivního antagonisty se nám nepodařilo jednoznačně prokázat ani v lokomočních experimentech ani v testu PPI v žádném z modelů kromě modelu s mezkalinem (parciální zablokování hyperlokomoce po nejvyšší dávce). Naproti tomu agonismus presynaptických 5-HT_{1A} receptorů, jenž vede ke snížení serotonergního tonu normalizoval některé behaviorální změny v glutamátergním modelu. Závěrem tedy můžeme shrnout, že v námi použitých modelech bylo možné normalizovat / blokovat indukované změny především pomocí D_2 a 5-HT_{2A} antagonismu eventuelně jejich kombinací a/nebo současným snížením serotonergního tonu cestou stimulace presynaptických 5-HT1A receptorů nebo cestou snížení hladin 5-HT pomocí tryptofanové deplece. Tato data opět poukazují na významnou roli těchto receptorů v mechanismu účinku stávajících antipsychotik.

Na základě našich experimentů můžeme konstatovat, že každý z námi použitých modelů může v závislosti na typu hodnoceného chování sloužit jako model psychózy. Pro přehlednost jsou pozorované výsledky shrnuty v tabulce 3. Z fenomenologického hlediska nejvíce podobností nacházíme v modelu glutamátergním, méně již pak v modelech serotonergním a dopaminergním. Naše experimenty potvrdili že pro normalizaci indukovaných změn lze efektivně využívat jak blokádu dopaminových D_2 a serotoninových 5-HT_{2A} receptorů eventuelně i jejich kombinaci, tak jsme prokázali i jistý vliv snížení celkového tonu serotonergního systému cestou tryptofanové deplece a ovlivněním presynaptických 5-HT_{1A} receptorů.

	glutamátergní model	dopaminergní model	serotonergní model
lokomoce	hyperlokomoce	hyperlokomoce	spíše hypolokomoce, pouze u některých modelů hyperlokomoce následuje po iniciální hypolokomoci (bifázický účinek)
deficit PPI	ano	ne	ano
dezorganizace prostorového chování	ano	ano	ano
dezorganizace exploračního chování	n.a.	n.a.	významná dezorganizace, po MDMA nárůst rearingu u samic následovaný snížením, nárůst sniffingu, po LSD obdobný bifázický efekt na rearing, dále pak společně s psilocinem úbytek sniffingu, groomingu, nárůst imobility a rozvoj atypických prvků jako flat body posture
výskyt stereotypií	n.a.	Ano, stereotypní běhání podél stěn arény	pouze u modelu s MDMA, stereotypní běhání podél stěn arény, stereotypní čenichání
EEG spektrální analýza	nárůst výkonu napříč spektrem	snížení výkonu v pásmech beta	nárůst výkonu v pásmech delta, theta a alfa a snížení výkonu v pásmu vysoká beta
EEG koherence	globální nárůst koherencí	zvýšení koherencí v pásmu delta a alfa, snížení koherencí ve všech ostatních pásmech	nárůst koherencí ve všech pásmech kromě pásma delta, snížení koherencí v pásmu beta
vliv 5-HT2A antagonisty	ano, parciálně, především blokuje deficit v PPI	n.a.	Ano, blokuje vznik deficitu v PPI, blokuje rozvoj hyperlokomoce po 2C-B a mezkalinu
vliv 5-HT2C antagonisty	potenciace hyperlokomoce, žádný vliv na PPI	n.a.	blokuje hypolokomoci, mírně potencuje hyperlokomoci, žádný vliv na PPI
vliv 5-HT1A antagonisty	bez efektu	n.a.	pouze mírný efekt na hyperlokomoci po mezkalinu
vliv 5-HT1A agonisty	nízké dávky (presynaptický účinek) blokují hyperlokomoci po MK-801 a upravují deficit v PPI, vysoké dávky (postsynaptický účinek) mírně antagonizují hyperlokomoci na druhou stranu zhoršují deficit v PPI	n.a.	n.a.
vliv D2 antagonisty	blokují hyperlokomoci, malý vliv na PPI	n.a.	blokuje hyperlokomoci, parciálně zlepšuje deficit v PPI po 2C-B
snížení hladin 5-HT pomocí tryptofanové deplece s kombinovanou blokádou D2 receptorů	normalizuje prostorové chování, zlepšuje oproti samotné D2 blokádě, normalizuje hyerlokomoci lépe než-li samotná blokáda D2 receptorů	n.a.	n.a.
vliv kombinovaných 5-HT2/D2 antagonistů (atypických antipsychotik)	blokují hyperlokomoci, upravují deficit v PPI	n.a.	n.a.

Tabulka 3. Shrnutí výsledků experimentálních práce v jednotlivých modelech.

X. Seznam publikací s IF:

Celkový IF = 23,2

1. **Páleníček T**, Balíková M, Bubeníková-Valešová V, Horáček J. Mescaline effects on Rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. Psychopharmacology 2008; 196:51-62. **IF 3,6**
2. **Páleníček T**, Hliňák Z, Bubeníková-Valešová V, Votava M, Horáček J. An analysis of spontaneous behavior following acute MDMA treatment in male and female rats. Neuro Endocrinol Lett. 2007; 28 (6); 781-788. **IF 0,9**
3. **Páleníček T,** Votava M, Bubeníková V, Horáček J.; Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats; Physiology & Behavior 2005***;*** 86:546-553**. IF 2,4**
4. Rohanová M, **Páleníček T**, Balíková M. Disposition of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and its metabolite 4-bromo-2-hydroxy-5-methoxyphenethylamine in rats after subcutaneous administration. Toxicol Lett. 2008; 178(1):29-36. **IF 2,8**
5. Bubeníková-Valešová V, Votava M, **Páleníček T**, Horáček J. The opposite effect of a low and a high dose of serotonin-1A agonist on behavior induced by MK-801. Neuropharmacology. 2007 Mar; 52(4):1071-8. **IF 3,8**
6. Horáček J, Bubeníková V, Kopeček M, **Páleníček T,** Dockery C, Mohr P, Höschl C; The Mechanism of Atypical Antipsychotic Drugs and the Neurobiology of Schizophrenia; CNS Drugs 2006; 20(5):389-409. **IF 4,3**
7. Bubeníková V, Votava M, Horáček J, **Páleníček T**. Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ectasy (MDMA). Behav Pharmacol 2005 16:127-130. **IF 2,4**
8. Bubeníková V, Votava M, Horáček J, **Páleníček T**, Dockery C. The effect of zotepine, risperidone, clozapine and olanzapine on MK-801-disrupted sensorimotor gating. Pharmacol Biochem Behav 2005; 80:591-596. **IF 2**

9. Bubeníková V, Horáček J, Kožený J, Platilová V, Závěšická L, **Páleníček T**, Höschl C; The effect of tryptophan depletion on the action of haloperidol in MK-801-treated rats.; Eur J Pharmacol. 2004 Oct 11; 502(1-2):109-16. **IF 2,5**

10. Horáček J, Dockery C, Kopeček M, Španiel F, Novák T, Tišlerová B, Klírová M, **Páleníček T**, Höschl C. Regional brain metabolism as the predictor of performance on the Trail Making Test in schizophrenia. A (18)FDG PET covariation study. Neuro Endocrinol Lett 2006; 27:587-594. **IF 0,9**

XI. Reference

Abi-Dargham,A, Gil,R, Krystal,J, Baldwin,RM, Seibyl,JP, Bowers,M, van Dyck,CH, Charney,DS, Innis,RB, Laruelle,M. Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. Am. J. Psychiatry 1998; 155: 761-767.

Abi-Dargham,A, Laruelle,M, Aghajanian,GK, Charney,D, Krystal,J. The role of serotonin in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 1997; 9: 1-17.

Andine,P, Widermark,N, Axelsson,R, Nyberg,G, Olofsson,U, Martensson,E, Sandberg,M. Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis. J Pharmacol. Exp. Ther. 1999;290: 1393-1408.

Andreasen,NC, Flashman,L, Flaum,M, Arndt,S, Swayze,V, O'Leary,DS, Ehrhardt,JC, Yuh,WT. Regional brain abnormalities in schizophrenia measured with magnetic resonance imaging. JAMA 1994; 272: 1763-1769.

Andreasen,NC, Rezai,K, Alliger,R, Swayze,VW, Flaum,M, Kirchner,P, Cohen,G, O'Leary,DS. 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 1992; 49: 943-958.

Arinami,T, Itokawa,M, Enguchi,H, Tagaya,H, Yano,S, Shimizu,H, Hamaguchi,H, Toru,M. Association of dopamine D2 receptor molecular variant with schizophrenia. Lancet 1994; 343: 703-704.

Arnt,J. Sertindole and several antipsychotic drugs differentially inhibit the discriminative stimulus effects of amphetamine, LSD and St 587 in rats. Behav. Pharmacol. 1992; 3: 11-18.

Begic,D, Hotujac,L, Jokic-Begic,N. Quantitative EEG in 'positive' and 'negative' schizophrenia. Acta Psychiatr. Scand. 2000a; 101: 307-311.

Begic,D, Hotujac,L, Jokic-Begic,N. Quantitative EEG in schizophrenic patients before and during pharmacotherapy. Neuropsychobiology 2000b; 41: 166-170.

Benes,FM. Alterations of neural circuitry within layer II of anterior cingulate cortex in schizophrenia. J. Psychiatr. Res. 1999; 33: 511-512.

Benes,FM. Emerging principles of altered neural circuitry in schizophrenia. Brain Res. Brain Res. Rev. 2000; 31: 251-269.

Bogerts,B. The neuropathology of schizophrenic diseases: historical aspects and present knowledge. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. 1999; 249 Suppl 4: 2-13.

Bowers,MB, Jr., Freedman,DX. "Psychedelic" experiences in acute psychoses. Arch. Gen. Psychiatry 1966; 15: 240-248.

Braff,DL, Geyer,MA, Swerdlow,NR. Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. Psychopharmacology (Berl) 2001; 156: 234-258.

Brunovský,M. Kvantitativní elektroencefalografie v psychiatrii. Psychiatrie 2004; 8: 53-59.

Brunovský,M, Horáček,J, Krajca,V, Matousek,M, Espa-Cervena,K, Belohlavek,O. The relationship between EEG coherence and regional brain metabolism in patients with schizophrenia. European Psychiatry 19(Suppl.1), 163. 2004.

Bubeníková,V, Horáček,J, Kožený,J, Platilová,V, Závěšická,L, Páleníček,T, Höschl,C. The effect of tryptophan depletion on the action of haloperidol in MK-801-treated rats. Eur. J. Pharmacol. 2004; 502: 109-116.

Bubeníková,V, Páleníček,T. Účinek antagonistů serotoninových 5-$HT_{2A/2C}$ receptorů na chování potkana v animálním modelu schizofrenii podobném chování. Psychiatrie 2005; 9: 25-28.

Bubeníková,V, Votava,M, Horáček,J, Páleníček,T. Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ecstasy (MDMA). Behav. Pharmacol. 2005a; 16: 127-130.

Bubeníková,V, Votava,M, Horáček,J, Páleníček,T, Dockery,C. The effect of zotepine, risperidone, clozapine and olanzapine on MK-801-disrupted sensorimotor gating. Pharmacol. Biochem. Behav. 2005b; 80: 591-596.

Bubeníková-Valešová,V, Balcar,VJ, Tejkalová,H, Langmeier,M, St'astny,F. Neonatal administration of N-acetyl-L-aspartyl-L-glutamate induces early neurodegeneration in hippocampus and alters behaviour in young adult rats. Neurochem. Int. 2006; 48: 515-522.

Bubeníková-Valešová,V, Votava,M, Páleníček,T, Horáček,J. The opposite effect of a low and a high dose of serotonin-1A agonist on behavior induced by MK-801. Neuropharmacology 2007; 52: 1071-1078.

Buchsbaum,MS, Haier,RJ, Potkin,SG, Nuechterlein,K, Bracha,HS, Katz,M, Lohr,J, Wu,J, Lottenberg,S, Jerabek,PA, . Frontostriatal disorder of cerebral metabolism in never-medicated schizophrenics. Arch. Gen. Psychiatry 1992; 49: 935-942.

Cardno,AG, Gottesman,II. Twin studies of schizophrenia: from bow-and-arrow concordances to star wars Mx and functional genomics. Am. J. Med. Genet. 2000; 97: 12-17.

Carlsson,A. Neurocircuitries and neurotransmitter interactions in schizophrenia. Int. Clin. Psychopharmacol. 1995; 10 Suppl 3: 21-28.

Carlsson,A, Waters,N, Holm-Waters,S, Tedroff,J, Nilsson,M, Carlsson,ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2001; 41: 237-260.

Carlsson,A, Waters,N, Waters,S, Carlsson,ML. Network interactions in schizophrenia - therapeutic implications. Brain Res. Brain Res. Rev. 2000; 31: 342-349.

Coyle,JT, Tsai,G, Goff,D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2003; 1003: 318-327.

Davis,KL, Kahn,RS, Ko,G, Davidson,M. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. Am. J. Psychiatry 1991; 148: 1474-1486.

Eilam,D, Golani,I. Home base behavior of rats (Rattus norvegicus) exploring a novel environment. Behav. Brain Res. 1989; 34: 199-211.

Ellenbroek,BA, Geyer,MA, Cools,AR. The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. J. Neurosci. 1995; 15: 7604-7611.

Erhardt,S, Blennow,K, Nordin,C, Skogh,E, Lindstrom,LH, Engberg,G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. Neurosci. Lett. 2001; 313: 96-98.

Fišerová,M, Páleníček,T. MDMA (3,4-metylendioxymetamfetamin) - „Extáze". Adiktologie 2001a; 1: 60-79.

Fišerová,M, Páleníček,T. Testování tablet „Extáze" – kvantitativní analýza obsahu vČeské Republice. Adiktologie 2001b; 1: 106-109.

Flor-Henry,P, Koles,ZJ. Statistical quantitative EEG studies of depression, mania, schizophrenia and normals. Biol. Psychol. 1984; 19: 257-279.

Ford,LM, Norman,AB, Sanberg,PR. The topography of MK-801-induced locomotor patterns in rats. Physiol Behav. 1989;46: 755-758.

Friston,KJ. The disconnection hypothesis. Schizophr. Res. 1998; 30: 115-125.

Gainetdinov,RR, Mohn,AR, Caron,MG. Genetic animal models: focus on schizophrenia. Trends Neurosci. 2001; 24: 527-533.

Gerez,M, Tello,A. Selected quantitative EEG (QEEG) and event-related potential (ERP) variables as discriminators for positive and negative schizophrenia. Biol. Psychiatry 1995; 38: 34-49.

Geyer,MA, Krebs-Thomson,K, Braff,DL, Swerdlow,NR. Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. Psychopharmacology (Berl) 2001; 156: 117-154.

Geyer,MA, Markou,A. Animal models of psychiatric disorders. In: Bloom,FE, Kupfer,DJ, editors. Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress . New York: Raven Press, Ltd, 1995.

Golani,I, Benjamini,Y, Eilam,D. Stopping behavior: constraints on exploration in rats (Rattus norvegicus). Behav. Brain Res. 1993; 53: 21-33.

Gottesman,II, Shields,J. Schizophrenia: The epigentic puzzle. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1982.

Grace,AA. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. Neuroscience 1991; 41: 1-24.

Harris,A, Melkonian,D, Williams,L, Gordon,E. Dynamic spectral analysis findings in first episode and chronic schizophrenia. Int. J. Neurosci. 2006; 116: 223-246.

Harrison,PJ. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. Brain 1999; 122 (Pt 4): 593-624.

Hashimoto,K, Engberg,G, Shimizu,E, Nordin,C, Lindstrom,LH, Iyo,M. Elevated glutamine/glutamate ratio in cerebrospinal fluid of first episode and drug naive schizophrenic patients. BMC. Psychiatry 2005a; 5: 6.

Hashimoto,K, Engberg,G, Shimizu,E, Nordin,C, Lindstrom,LH, Iyo,M. Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2005b; 29: 767-769.

Hoch,PH, Cattell,JP, Pennes,HH. Effects of mescaline and lysergic acid (d-LSD-25). Am. J. Psychiatry 1952; 108: 579-584.

Hoffman,RE, Buchsbaum,MS, Escobar,MD, Makuch,RW, Nuechterlein,KH, Guich,SM. EEG coherence of prefrontal areas in normal and schizophrenic males during perceptual activation. J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci. 1991; 3: 169-175.

Hollister,LE, Sjoberg,BM. Clinical syndromes and biochemical alterations following mescaline, lysergic acid diethylamide, psilocybin and a combination of the three psychotomimetic drugs . Compr. Psychiatry 1964; 20: 170-178.

Horáček,J, Bubeníková-Valešová,V, Kopeček,M, Páleníček,T, Dockery,C, Mohr,P, Höschl,C. Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. CNS Drugs 2006a; 20: 389-409.

Horáček,J, Dockery,C, Kopeček,M, Španiel,F, Novák,T, Tišlerová,B, Klírová,M, Páleníček,T, Höschl,C. Regional brain metabolism as the predictor of performance on the Trail Making

Test in schizophrenia. A 18FDG PET covariation study. Neuro. Endocrinol. Lett. 2006b; 27: 587-594.

Hornig,M, Weissenbock,H, Horscroft,N, Lipkin,WI. An infection-based model of neurodevelopmental damage. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 1999; 96: 12102-12107.

Höschl,C, Libiger,J, Švestka,J. Psychiatrie. Tigis, 2004.

Jablensky,A. The 100-year epidemiology of schizophrenia. Schizophr. Res. 1997; 28: 111-125.

Jaskiw,GE, Juliano,DM, Goldberg,TE, Hertzman,M, Urow-Hamell,E, Weinberger,DR. Cerebral ventricular enlargement in schizophreniform disorder does not progress. A seven year follow-up study. Schizophr. Res. 1994; 14: 23-28.

Jentsch,JD, Roth,RH. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. Neuropsychopharmacology 1999; 20: 201-225.

Kahn,EM, Weiner,RD, Coppola,R, Kudler,HS, Schultz,K. Spectral and topographic analysis of EEG in schizophrenic patients. Biol. Psychiatry 1993; 33: 284-290.

Kaplan,RD, Szechtman,H, Franco,S, Szechtman,B, Nahmias,C, Garnett,ES, List,S, Cleghorn,JM. Three clinical syndromes of schizophrenia in untreated subjects: relation to brain glucose activity measured by positron emission tomography (PET). Schizophr. Res. 1993; 11: 47-54.

Kelley,AE. Measurement of rodent stereotyped behavior. Curr. Protoc. Neurosci. 2001;Chapter 8: Unit.

Kendler,KS, Diehl,SR. The genetics of schizophrenia: a current, genetic-epidemiologic perspective. Schizophr. Bull. 1993; 19: 261-285.

Kim,JS, Kornhuber,HH, Schmid-Burgk,W, Holzmuller,B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. Neurosci. Lett. 1980; 20: 379-382.

Kopeček,M, Horáček,J. Schizofrenie v obraze funkčních zobrazovacích metod. Metabolické a perfuzní studie. Psychiatrie 2002; 6: 35-41.

Kornhuber,J, Mack-Burkhardt,F, Riederer,P, Hebenstreit,GF, Reynolds,GP, Andrews,HB, Beckmann,H. [3H]MK-801 binding sites in postmortem brain regions of schizophrenic patients. J. Neural Transm. 1989; 77: 231-236.

Krystal,JH, Karper,LP, Seibyl,JP, Freeman,GK, Delaney,R, Bremner,JD, Heninger,GR, Bowers,MB, Jr., Charney,DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. Arch. Gen. Psychiatry 1994; 51: 199-214.

Kutová,M, Fujáková,M, Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V. Srovnání účinku psychedelik mezkalinu a 2C-B vanimálním modelu – role serotoninových 5-HT2 a 5-HT1 receptorů. Psychiatrie 12(Suppl. 1), 47. 2008.

Kutová,M, Páleníček,T, Fujáková,M. Role serotoninových 5-HT1 a 5-HT2 receptorů v mechanizmu účinku syntetické drogy 2C-B. Psychiatrie 11(Suppl. 2), 44-45. 2007.

Lachman,HM, Papolos,DF, Saito,T, Yu,YM, Szumlanski,CL, Weinshilboum,RM. Human catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics: description of a functional polymorphism and its potential application to neuropsychiatric disorders. Pharmacogenetics 1996; 6: 243-250.

Lahti,AC, Holcomb,HH, Medoff,DR, Tamminga,CA. Ketamine activates psychosis and alters limbic blood flow in schizophrenia. Neuroreport 1995a; 6: 869-872.

Lahti,AC, Koffel,B, LaPorte,D, Tamminga,CA. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. Neuropsychopharmacology 1995b; 13: 9-19.

Lát,J. The analysis of habituation. Acta Neurobiol. Exp. (Wars.) 1973; 33: 771-789.

Lewis,DA, Volk,DW, Hashimoto,T. Selective alterations in prefrontal cortical GABA neurotransmission in schizophrenia: a novel target for the treatment of working memory dysfunction. Psychopharmacology (Berl) 2004; 174: 143-150.

Li,T, Sham,PC, Vallada,H, Xie,T, Tang,X, Murray,RM, Liu,X, Collier,DA. Preferential transmission of the high activity allele of COMT in schizophrenia. Psychiatr. Genet. 1996; 6: 131-133.

Lipska,BK, Weinberger,DR. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. Neuropsychopharmacology 2000; 23: 223-239.

Malhotra,AK, Adler,CM, Kennison,SD, Elman,I, Pickar,D, Breier,A. Clozapine blunts N-methyl-D-aspartate antagonist-induced psychosis: a study with ketamine. Biol. Psychiatry 1997a; 42: 664-668.

Malhotra,AK, Pinals,DA, Adler,CM, Elman,I, Clifton,A, Pickar,D, Breier,A. Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. Neuropsychopharmacology 1997b; 17: 141-150.

Mann,K, Maier,W, Franke,P, Roschke,J, Gansicke,M. Intra- and interhemispheric electroencephalogram coherence in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. Biol. Psychiatry 1997; 42: 655-663.

Marona-Lewicka,D, Thisted,RA, Nichols,DE. Distinct temporal phases in the behavioral pharmacology of LSD: dopamine D2 receptor-mediated effects in the rat and implications for psychosis. Psychopharmacology (Berl) 2005; 180: 427-435.

Merrin,EL, Floyd,TC, Fein,G. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients. Biol. Psychiatry 1989; 25: 60-66.

Michelogiannis,S, Paritsis,N, Trikas,P. EEG coherence during hemispheric activation in schizophrenics. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. 1991; 241: 31-34.

Miyamoto,Y, Yamada,K, Noda,Y, Mori,H, Mishina,M, Nabeshima,T. Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal systems in mice lacking the NMDA receptor epsilon1 subunit. J. Neurosci. 2001; 21: 750-757.

Moghaddam,B. Targeting metabotropic glutamate receptors for treatment of the cognitive symptoms of schizophrenia. Psychopharmacology (Berl) 2004; 174: 39-44.

Mohn,AR, Gainetdinov,RR, Caron,MG, Koller,BH. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. Cell 1999; 98: 427-436.

Moore,NA. Behavioural pharmacology of the new generation of antipsychotic agents. Br. J. Psychiatry Suppl 1999; 5-11.

Morgane,PJ, ustin-LaFrance,R, Bronzino,J, Tonkiss,J, az-Cintra,S, Cintra,L, Kemper,T, Galler,JR. Prenatal malnutrition and development of the brain. Neurosci. Biobehav. Rev. 1993; 17: 91-128.

Morrison-Stewart,SL, Williamson,PC, Corning,WC, Kutcher,SP, Merskey,H. Coherence on electroencephalography and aberrant functional organisation of the brain in schizophrenic patients during activation tasks. Br. J. Psychiatry 1991; 159: 636-644.

Nagase,Y, Okubo,Y, Matsuura,M, Kojima,T, Toru,M. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients: topographical study of predominantly never medicated cases. Biol. Psychiatry 1992;32: 1028-1034.

Noga,JT, Hyde,TM, Herman,MM, Spurney,CF, Bigelow,LB, Weinberger,DR, Kleinman,JE. Glutamate receptors in the postmortem striatum of schizophrenic, suicide, and control brains. Synapse 1997; 27: 168-176.

Ossowska,K, Pietraszek,M, Wardas,J, Dziedzicka-Wasylewska,M, Nowicka,D, Wolfarth,S. Chronic treatments with haloperidol and clozapine alter the level of NMDA-R1 mRNA in the rat brain: an in situ hybridization study. Pol. J. Pharmacol. 2002; 54: 1-9.

Owen,MJ, Williams,NM, O'Donovan,MC. Dysbindin-1 and schizophrenia: from genetics to neuropathology. J. Clin. Invest 2004; 113: 1255-1257.

Páleníček,T. Syntetické drogy nově se vyskytující na ilegální drogové scéně. Psychiatrie pro praxi 2006; 6: 159-199.

Páleníček,T. Animální modely účinků drog. Referátový výběr z psychiatrie 2007; 6: 34-39.

Páleníček,T, Balíková,M, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. Psychopharmacology (Berl) 2008a; 196: 51-62.

Páleníček,T, Bubeníková,V, Votava,M, Horáček,J. Účinky MDMA, LSD a psilocinu na lokomoci potkana. Adiktologie 2005a; 5: 121-130.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V. Effects of 5-HT2C and 5-HT2A receptor antagonism on hyperlocomotion induced by MK-801. World J Biol Psychiatry 6(Suppl. 1), 325-326. 2005.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Modeling of psychotic-like behavior: comparison of MK-801 with psilocin, LSD, mescaline and 2C-B models. Behavioral study on prepulse inhibition of acoustic startle and on locomotion. Schizophrenia Research 81(Suppl.), 292. 2006a.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Srovnání nové syntetické drogy 2C-B súčinky klasických psychedelik (LSD, psilocin, mezkalin) a MDMA vanimálním modelu. Psychiatrie 10(Suppl. 1), 23. 2006b.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Srovnání amfetaminu, ketaminu, MK-801, meskalinu, psilocinu, LSD a 2C-B v animálním modelu schizofrenie. Psychiatrie 11(Suppl. 2), 61-62. 2007a.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. The role of serotonin 5-HT2A/C receptors in the behavioral action of the synthetic drug 2C-B. World J Biol Psychiatry 8(Suppl. 1), 205. 2007b.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J, Vrajová,M, Novák,T. Účinky selektivního antagonisty serotoninového 5-HT_{2C} receptoru SB242084 na lokomoci potkana v animálních modelech psychóz. Psychiatrie 2006c; 10: 16-20.

Páleníček,T, Bubeníková-Valešová,V, Valeš,K, Horáček,J, Vrajová,M. Role 5-HT1A a 5-HT2A/C receptorů v mechanismu účinku syntetické drogy Nexus (2C-B) - animální studie na potkanech. Nemocná duše - nemocný mozek: klinická zkušenost a fakta , 150. 2006d.

Páleníček,T, Fujáková,M, Kutová,M, Brunovský,M, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Kvantitativní EEG ve farmakologickém modelu psychózy. Psychiatrie 2007c; 11: 16-21.

Páleníček,T, Fujáková,M, Kutová,M, Brunovský,M, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Quantitative EEG in three pharmacological models of psychosis. European Psychiatry 23(Suppl. 2), S136. 2008b.

Páleníček,T, Fujáková,M, Kutová,M, Brunovský,M, Horáček,J, Bubeníková-Valešová,V. Behavioral and QEEG effects of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenylethylamine (2C-B) in rats – a possible model of psychosis? Behavioural Pharmacology 18(Suppl. 1), S13. 2007d.

Páleníček,T, Hliňák,Z, Bubeníková-Valešová,V, Horáček,J. Pohlavní rozdíly v účinku psychedelik LSD a Psilocinu u potkana vtestu otevřeného pole. Psychiatrie 11(Suppl. 1), 43. 2007e.

Páleníček,T, Hliňák,Z, Bubeníková-Valešová,V, Votava,M, Horáček,J. An analysis of spontaneous behavior following acute MDMA treatment in male and female rats. Neuro. Endocrinol. Lett. 2007f; 28: 781-788.

Páleníček,T, Horáček,J, Bubeníková,V. Effects of haloperidol on locomotion in animal model of schizophrenia induced by NMDA antagonist MK-801. Psychiatrie 2003a; 7: 50-54.

Páleníček,T, Horáček,J, Bubeníková-Valešová,V, Šťastný,F. The effect of specific ligands of 5-HT/DA receptors on locomotion in MK-801-treated animals. Physiological Research 52(3), 36P. 2003b.

Páleníček,T, Horáček,J, Bubeníková-Valešová,V, Šťastný,F. Effects of 5-HT_{1a} receptor agonist 8-OH-DPAT and D_2 receptor antagonist haloperidol on locomotion – animal model of schizophrenia. Schizophrenia Research 67(Suppl.1), 122. 2004a.

Páleníček,T, Kubu,P, Mravcik,V. Nové syntetické drogy. Zaostřeno na drogy 2(4). 2004b.

Páleníček,T, Kubu,P, Mravcik,V. Nové syntetické drogy - charakteristika a hlavní rizika. Zabransky, T., Petros, O., and Korcisova, B. 2004c. Nábřeží E. Beneše 4, 118 01 Praha 1, Úřad vlády České republiky.

Páleníček,T, Rohanová,M, Balíková,M, Horáček,J. Behavioral Effects of 2C-B in Rats – study on prepulse inhibition of acoustic startle and locomotion – a preliminary report . Proceedings from ICADS /Tiaft 2007 (http://www.icadts2007.org) . 2007g.

Páleníček,T, Šustková,M. Extáze – tajemný tanec. Psychiatrie 2003; 7: 101-109.

Páleníček,T, Votava,M, Bubeníková,V, Horáček,J. Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats. Physiol Behav. 2005b; 86: 546-553.

Patil,ST, Zhang,L, Martenyi,F, Lowe,SL, Jackson,KA, Andreev,BV, Avedisova,AS, Bardenstein,LM, Gurovich,IY, Morozova,MA, Mosolov,SN, Neznanov,NG, Reznik,AM, Smulevich,AB, Tochilov,VA, Johnson,BG, Monn,JA, Schoepp,DD. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. Nat. Med. 2007; 13: 1102-1107.

Paxinos,G, Watson,C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. New York: Elsevier, Academic Press, 2003.

Perry,TL. Normal cerebrospinal fluid and brain glutamate levels in schizophrenia do not support the hypothesis of glutamatergic neuronal dysfunction. Neurosci. Lett. 1982; 28: 81-85.

Pietraszek,M. Significance of dysfunctional glutamatergic transmission for the development of psychotic symptoms. Pol. J. Pharmacol. 2003; 55: 133-154.

Riley,B, Kendler,KS. Molecular genetic studies of schizophrenia. Eur. J. Hum. Genet. 2006; 14: 669-680.

Rohanová,M, Páleníček,T, Balíková,M. Disposition of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and its metabolite 4-bromo-2-hydroxy-5-methoxyphenethylamine in rats after subcutaneous administration. Toxicol. Lett. 2008; 178: 29-36.

Sedvall,G, Farde,L. Chemical brain anatomy in schizophrenia. Lancet 1995; 346: 743-749.

Seeman,P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. Synapse 1987; 1: 133-152.

Shifman,S, Bronstein,M, Sternfeld,M, Pisante-Shalom,A, Lev-Lehman,E, Weizman,A, Reznik,I, Spivak,B, Grisaru,N, Karp,L, Schiffer,R, Kotler,M, Strous,RD, Swartz-Vanetik,M, Knobler,HY, Shinar,E, Beckmann,JS, Yakir,B, Risch,N, Zak,NB, Darvasi,A. A highly

significant association between a COMT haplotype and schizophrenia. Am. J. Hum. Genet. 2002; 71: 1296-1302.

Snyder,SH. The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor. Am. J. Psychiatry 1976; 133: 197-202.

Soares,JC, Innis,RB. Neurochemical brain imaging investigations of schizophrenia. Biol. Psychiatry 1999; 46: 600-615.

Staddon,S, Arranz,MJ, Mancama,D, Perez-Nievas,F, Arrizabalaga,I, Anney,R, Buckland,P, Elkin,A, Osborne,S, Munro,J, Mata,I, Kerwin,RW. Association between dopamine D3 receptor gene polymorphisms and schizophrenia in an isolate population. Schizophr. Res. 2005; 73: 49-54.

Stanley,JA, Williamson,PC, Drost,DJ, Rylett,RJ, Carr,TJ, Malla,A, Thompson,RT. An in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study of schizophrenia patients. Schizophr. Bull. 1996; 22: 597-609.

Šťastný,F, Balcar,VJ. Schizofrenie jako genetická porucha synaptického spojení. Psychiatrie 2008; 12: 29-38.

Šťastný,F, Tejkalová,H, Skuba,I, Páleníček,T, Pliss,L, Mareš,V, Krištofíková,Z, Kaiser,M, Höschl,C, Bubeníková,V, Balcar,V. Interakce dopaminového D1/D2 receptoru sglutamátovým receptorem NMDA typu: od molekul kanimálním modelům schizofrenie. Psychiatrie 2004; 8: 32-41.

Swerdlow,NR, Geyer,MA. Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. Schizophr. Bull. 1998; 24: 285-301.

Swerdlow,NR, Geyer,MA, Braff,DL. Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges. Psychopharmacology (Berl) 2001; 156: 194-215.

Tauscher,J, Fischer,P, Neumeister,A, Rappelsberger,P, Kasper,S. Low frontal electroencephalographic coherence in neuroleptic-free schizophrenic patients. Biol. Psychiatry 1998; 44: 438-447.

Tiedtke,PI, Bischoff,C, Schmidt,WJ. MK-801-induced stereotypy and its antagonism by neuroleptic drugs. J Neural Transm. Gen. Sect. 1990;81: 173-182.

Tsai,G, Passani,LA, Slusher,BS, Carter,R, Baer,L, Kleinman,JE, Coyle,JT. Abnormal excitatory neurotransmitter metabolism in schizophrenic brains. Arch. Gen. Psychiatry 1995; 52: 829-836.

Tsai,G, van Kammen,DP, Chen,S, Kelley,ME, Grier,A, Coyle,JT. Glutamatergic neurotransmission involves structural and clinical deficits of schizophrenia. Biol. Psychiatry 1998; 44: 667-674.

Volk,DW, Austin,MC, Pierri,JN, Sampson,AR, Lewis,DA. Decreased glutamic acid decarboxylase67 messenger RNA expression in a subset of prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid neurons in subjects with schizophrenia. Arch. Gen. Psychiatry 2000; 57: 237-245.

Vollenweider,FX, Geyer,MA. A systems model of altered consciousness: integrating natural and drug-induced psychoses. Brain Res. Bull. 2001; 56: 495-507.

Vollenweider,FX, Leenders,KL, Scharfetter,C, Maguire,P, Stadelmann,O, Angst,J. Positron emission tomography and fluorodeoxyglucose studies of metabolic hyperfrontality and psychopathology in the psilocybin model of psychosis. Neuropsychopharmacology 1997; 16: 357-372.

Vollenweider,FX, Vollenweider-Scherpenhuyzen,MF, Babler,A, Vogel,H, Hell,D. Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. Neuroreport 1998; 9: 3897-3902.

Wada,Y, Nanbu,Y, Jiang,ZY, Koshino,Y, Hashimoto,T. Interhemispheric EEG coherence in never-medicated patients with paranoid schizophrenia: analysis at rest and during photic stimulation. Clin. Electroencephalogr. 1998;29: 170-176.

Westergaard,T, Mortensen,PB, Pedersen,CB, Wohlfahrt,J, Melbye,M. Exposure to prenatal and childhood infections and the risk of schizophrenia: suggestions from a study of sibship characteristics and influenza prevalence. Arch. Gen. Psychiatry 1999; 56: 993-998.

Winterer,G, Egan,MF, Radler,T, Hyde,T, Coppola,R, Weinberger,DR. An association between reduced interhemispheric EEG coherence in the temporal lobe and genetic risk for schizophrenia. Schizophr. Res. 2001; 49: 129-143.

XII. Seznam příloh č.1 (A-O) disertační práce

Role dopaminergní a serotonergní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie

MUDr. Tomáš Páleníček

Příloha obsahuje soubor vybraných publikací v plném textu, které jsou komentovány v kapitole VII a shrnuty v kapitolách VIII a IX. Nejprve jsou přiloženy publikace v anglickém jazyce vydané v časopisech s IF a následují publikace v jazyce českém a jedna v anglickém vydané v českých časopisech.

A. Rohanová M, **Páleníček T**, Balíková M. Disposition of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and its metabolite 4-bromo-2-hydroxy-5-methoxyphenethylamine in rats after subcutaneous administration. Toxicol Lett. 2008; 178(1):29-36. **IF 2,8**

B. **Páleníček T**, Balíková M, Bubeníková-Valešová V, Horáček J. Mescaline effects on Rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. Psychopharmacology 2008; 196:51-62. **IF 3,6**

C. **Páleníček T**, Hliňák Z, Bubeníková-Valešová V, Votava M, Horáček J. An analysis of spontaneous behavior following acute MDMA treatment in male and female rats. Neuro Endocrinol Lett. 2007; 28 (6); 781-788. **IF 0,9**

D. Bubeníková-Valešová V, Votava M, **Páleníček T**, Horáček J. The opposite effect of a low and a high dose of serotonin-1A agonist on behavior induced by MK-801. Neuropharmacology. 2007 Mar; 52(4):1071-8. **IF 3,8**

E. **Páleníček T,** Votava M, Bubeníková V, Horáček J.; Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats; Physiology & Behavior 2005***;*** 86:546-553**. IF 2,4**

F. Bubeníková V, Votava M, Horáček J, **Páleníček T**. Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ectasy (MDMA). Behav Pharmacol 2005 16:127-130. **IF 2,4**

G. Bubeníková V, Votava M, Horáček J, **Páleníček T**, Dockery C. The effect of zotepine, risperidone, clozapine and olanzapine on MK-801-disrupted sensorimotor gating. Pharmacol Biochem Behav 2005; 80:591-596. **IF 2**

H. Bubeníková V, Horáček J, Kožený J, Platilová V, Závěšická L, **Páleníček T**, Höschl C; The effect of tryptophan depletion on the action of haloperidol in MK-801-treated rats.; Eur J Pharmacol. 2004 Oct 11; 502(1-2):109-16. **IF 2,5**

I. Horáček J, Bubeníková V, Kopeček M, **Páleníček T**, Dockery C, Mohr P, Höschl C; The Mechanism of Atypical Antipsychotic Drugs and the Neurobiology of Schizophrenia; CNS Drugs 2006; 20(5):389-409. **IF 4,3**

J. **Páleníček T.,** Fujáková M., Kutová M., Brunovský M., Bubeníková-Valešová V., Horáček J. Kvantitativní EEG ve farmakologickém modelu psychózy. Psychiatrie 2007; 11 (Suppl. 3): 16-21.

K. **Páleníček T.,** Rohanová, M., Balíková, M., Horáček, J. Behavioral Effects of 2C-B in Rats – study on prepulse inhibition of acoustic startle and locomotion – a preliminary report . Proceedings from ICADS /Tiaft 2007 (http://www.icadts2007.org). 2007

L. **Páleníček T**, Bubeníková-Valešová V, Horáček J, Vrajová M, Novák T. Účinky selektivního antagonisty serotoninového 5-HT_{2C} receptoru SB242084 na lokomoci potkana v animálních modelech psychóz. Psychiatrie 2006; 10 (Suppl. 3); 16-20

M. **Páleníček T,** Bubeníková V, Votava M, Horáček J. Účinky MDMA, LSD a psilocinu na lokomoci potkana. Adiktologie 2005; 5/2; 120-130.

N. Bubeníková V, **Páleníček T**. Účinek antagonistů serotoninových 5-HT2A/2C receptorů na chování potkana v animálním modelu schizofrenii podobném chování. Psychiatrie 2005; 9(Suppl. 3):25-28.

O. **Páleníček T**, Horáček J, Bubeníková,V. Effects of haloperidol on locomotion in animal model of schizophrenia induced by NMDA antagonist MK-801. Psychiatrie 2003; 7 (Suppl. 3): 50-54.

XIII. Seznam příloh č.2 (A-J) disertační práce

Role dopaminergní a serotonergní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie

MUDr. Tomáš Páleníček

Příloha obsahuje další publikace publikované v časopisech s IF a českých recenzovaných časopisech a přehledné publikace související s tématem.

A. **Páleníček T**., Horáček J. Neurobiologie účinku halucinogenů a disociativních anestetik. Psychiatrie 2008; 12(Suppl.3); 33-45

B. Horáček J, Dockery C, Kopeček M, Španiel F, Novák T, Tišlerová B, Klírová M, **Páleníček T**, Höschl C. Regional brain metabolism as the predictor of performance on the Trail Making Test in schizophrenia. A (18)FDG PET covariation study. Neuro Endocrinol Lett 2006; 27:587-594. **IF 0,9**

C. **Páleníček T**. Animální modely účinků drog. Referátový výběr z psychiatrie 2007; 6 (speciál II/2007): 34-39.

D. **Páleníček T**; Syntetické drogy nově se vyskytující na ilegální drogové scéně; Psychiatrie pro praxi 2005; vol. 6, no. 5: 195-199.

E. **Páleníček T**, Kubů P, Mravčík V; Nové syntetické drogy - charakteristika a hlavní rizika.; *Editoři: Zábranský T, Petroš O, Korčišová B;* vydal Úřad vlády České republiky, Nábřeží E. Beneše 4, 118 01; ISBN 80-86734-26-9.

F. **Páleníček T**, Kubů P, Mravčík V; Nové syntetické drogy; Zaostřeno na drogy 4, červenec - srpen 2004; *Editoři: Zábranský T, Petroš O, Korčišová B;* vydal Úřad vlády České republiky, Nábřeží E. Beneše 4, 118 01 Praha 1; Evidenční číslo Ministerstva kultury ČR: MK ČR E 14088.; ISSN 1214-1089.

G. Šťastný F, Tejkalová H, Skuba I, **Páleníček T**, Pliss L, Mareš V, Krištofíková Z, Kaiser M, Höschl C, Bubeníková V, Balcar M; Interakce dopaminového D1/D2 receptoru s glutamátovým receptorem NMDA typu: od molekul k animálním modelům schizofrenie.; Psychiatrie 2004; 8 / Suppl. 3; 32-41.

H. Páleníček, T, Šustková, M. Extáze – tajemný tanec; Psychiatrie 2003; 7 / 2; 101-109.

I. Fišerová M, **Páleníček T**; MDMA (3,4-metylendioxymetamfetamin)„Extáze“; Adiktologie 2001; 1(2), 60-79; ISSN:1213-3841.

J. Fišerová M, **Páleníček T**; Testování tablet „Extáze“ – kvantitativní analýza obsahu v České Republice.; Adiktologie 2001; 2, 106-109; ISSN:1213-3841.