

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE :

MUDr. Tomáš Páleníček

Role dopaminergní a serotonergní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie.

Podle shrnutí autora cílem doktorské práce bylo studium role serotonergní a dopaminergní neurotransmise v animálních farmakologických modelech schizofrenie, dle volby autora u potkanů kmene Wistar, u nichž byly hodnoceny směny v chování a elektrické aktivity mozku potkana v jednotlivých modelech psychóz.

Dr. Páleníček přehledně uvádí řazení kapitol od pojednání o neurobiologii schizofrenního onemocnění s hypotézami, popisujícími etiologii a biochemický podklad tohoto onemocnění a popisu animálních modelů psychóz se zaměřením na autorem použitými farmakologickými modely, shrnuje metodiku prováděných experimentů, uvádí specifické cíle práce a komentuje publikace, jež jsou hlavním výstupem doktorského studia. V závěru práce přehledně shrnuje výsledky všech experimentů ve vztahu k cílům práce.

Autor přehledně a bystře shrnuje nyní uznávané důvody pro koncepci schizofrenního onemocnění, které z genetického pohledu je možno pravděpodobně považovat za heterogenní skupinu genetických poruch s podobným fenotypem a dále podrobně shrnuje rej kaskád kandidátních genů, jež jsou nyní v etiologii schizofrenie podezřívány.

Při popisu neurochemických mechanismů u schizofrenie autor podává systematický obraz vývoje výzkumu a názorů na role dopaminergního systému, odvozenou od působení klasických neuroleptik, na roli serotonergního systému, přiřazenou nyní spíše jeho modulační funkci a odvozenou od výzkumu atypických antipsychotik a zejména roli glutamatergního systému spojovanou s objevem účinku tzv. nekompetitivních antagonistů NMDA receptoru – ketaminu, fencyklidinu a dizocylpinu, což vedlo k formulaci koncepce schizofrenie jako

hypoglutamatergního syndromu, charakterizovaného dysfunkcí NMDA receptorů.

Antagonisté NMDA receptorů u zdravých dobrovolníků indukují změny v chování a prožívání, které se do značné míry překrývají jak s pozitivními tak s negativními symptomy schizofrenie.

V animálních modelech mají tyto látky široké uplatnění jako modely psychóz a jsou používány k prediktivnímu testování účinku potencionálních i stávajících antipsychotik. Pokud se týká morfoloických a funkčních nálezů u schizofrenie podává autor krátký pohled na hodnocení funkčních změn metodami funkční magnetické resonance (fMRI), pozitronové a jednofotonové tomografie (PET a SPECT) a také hodnotí změny v kvantitativní elektroencefalografii (QEEG), při čemž první mají poměrně dobrou prostorovou rozlišovací schopnost a elektrofyziologické metody mají výbornou časovou rozlišovací schopnost.

Ve čtvrtém oddíle disertace popisuje autor přednosti, výhody a nevýhody animálních modelů schizofrenie jako typicky lidského onemocnění a vyjmenovává parametry, na které se u chování experimentálních zvířat zaměřil, to je měření lokomočních změn indukovaných v otevřeném poli, na změny v ostatních prvcích chování a na sensorimotorické zpracování informací měřené pomocí repulsní inhibice a akustické úlekové reakce.

U všech metod popisuje chování v normě a jeho změny po ovlivnění látkou.

Kvantitativní EEG v animálních modelech psychóz nebylo dosud 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.

Popisuje pak změny u dopaminového modelu, navozované nejčastěji amfetaminem, metamfetaminem, kokainem nebo apomorfinem, u serotoninového modelu s použitím LSD či psylocinu nebo jiných látek a u glutamatergního modelu, navozovaného subanestetickými dávkami nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů (PCP, ketamin), které vyvolávají u zdravých dobrovolníků psychózu nejpodobnější vlastnímu psychotickému onemocnění,

protože modeluje jak pozitivní tak negativní symptomy psychózy.

K doplnění obrazu zmiňuje autor stručně též genetické a neurovývojové modely.

Autor si stanovil v rámci disertační práce tyto cíle :

- 1) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska lokomočního chování, testováním hypotézy:
Použité metody naruší normální lokomoci zvířete a povedou k hyperlokomoci.
- 2) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska chování v testu otevřeného pole, testováním hypotézy:
Použité modely naruší normální strukturu chování potkana.
- 3) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska hodnocení prepulzní inhibice úlekové reakce, testováním hypotézy:
Použité modely budou indukovat deficit v senzomotorickém zpracování informací.
- 4) Srovnání farmakologických animálních modelů psychóz z hlediska kvantitativního EEG, testováním hypotézy:
Použité modely změní parametry kvantitativního EEG – alterují výkonová spektra a povedou k změnám ve funkční konektivité mezi jednotlivými oblastmi (způsobí diskonekce z hlediska koherenční analýzy).
- 5) Za pomoci selektivních ligandů receptorů a antipsychotik srovnání role různých serotoninových a dopaminových receptorů v mechanismu změn zjištěných v autorem použitých modelech psychóz, testováním hypotézy:
Antagonisté serotoninových a dopaminových receptorů budou normalizovat změny, vyvolané autorem použitými modely psychóz.

V oddíle VI popisuje autor použité metodiky od výběru pokusných zvířat, přes podrobný popis použitých farmakologických modelů, odpovídajících daným cílům práce a metod pozorování a registrace, kdy autor použil metody Ethovision – pro analýzu lokomoce, test otevřeného pole – open field, stanovení prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR) a hodnocení elektrické aktivity mozku pomocí kvantitativního EEG.

Je uveden též popis biochemické analýzy, kdy byly vzorky frontálního kortexu nebo celé mozky zvířat analyzovány pro hladiny tryptofanu, serotoninu a jeho metabolitu a analýzy hladin mezkalinu 2C-B, detailní popis obou metodik je uveden v příloze práce.

V oddíle VII autor shrnuje výsledky svých pozorování a experimentů s podrobným komentářem publikací, které jsou uvedeny v příloze a dokumentovány též tabulkami, grafy a obrázky.

V závěru práce je shrnutí a závěry.

Autor hodnotí v předložené práci výsledky studií, zaměřených na animální modely psychóz a srovnává vhodnost jednotlivých parametrů chování a elektrofysiologických korelátů ve třech farmakologických modelech psychóz, odvozených v podstatě z hypotéz poruch hlavních neurotransmisních systémů, jež jsou považovány většinou autorů za hlavní korelát nebo příčinu schizofrenie.

Za model pozitivních příznaků psychóz je pokládána hyperlokomoce a dezorganizace lokomoční aktivity v prostoru a normálního chování zvířat v otevřeném poli, včetně výskytu stereotypií.

Dle autorových výsledků vedou k indukci hyperlokomoce a k narušení prostorového chování zvířat jak model glutamatergní, tak model dopaminergní.

U serotoninergního modelu pozoroval autor hyperlokomoci pouze po aplikaci fenyletylaminových halucinogenů a nikoli po tyraminovém (psilocinu) a ergolinovém halucinogenu (LSD).

Hyperlokomoce byla indukována též pomocí serotonin-dopaminového mimetika (MDMA) a prostorové chování bylo porušeno též v serotoninergních modelech.

Z fenomenologického hlediska shrnuje autor, že hyperlokomoce jako model pozitivních příznaků je indukována především v dopaminergním a glutamatergním modelu a ze serotoninergních modelů jen v modelech, vyvolaných aplikací psilocinu, mezkalinu a MDMA.

Dezorganizace chování zvířat v testu otevřeného pole, jeho stimulace, inhibice a zejména stereotypie jsou opět považovány za jeden z modelů pozitivních příznaků, které autor- zejména stereotypii - pozoroval po aplikaci MDMA.

Z jiných prací je uváděno, že prvky stereotypního chování jsou přítomny též v glutamatergním a dopaminergním modelu.

Na základě výskytu stereotypního chování v jednotlivých modelech autor shrnuje, že vhodnějšími modely jsou modely glutamatergní a dopaminergní, eventuelně model s MDMA než modely serotonergní.

V další části práce se autor se svými spolupracovníky zaměřil na to, jakým způsobem výše popsané farmakologické modely mění parametry kvantitativního EEG potkana. Hodnotili vliv jednotlivých modelů na EEG spektra, (delta až vysoké gama) a EEG koherence potkana z 12 kortikálních svodů. Autor konstatuje, že doposud nebyly v literatuře publikovány obdobné animální experimenty a jedná se tedy o první experiment tohoto rozsahu.

Spektrální analýza prokázala globální nárůst výkonu nad celým kortexem a napříč spektrem v glutamatergním modelu, v serotonergním modelu pak nárůst pomalovlných aktivit a snížení výkonu v pásmech beta. V glutamatergním modelu zjistili autoři masivní nárůst koherenci mezi všemi elektrodami napříč spektrem, změny koherence nastaly též v ostatních modelech.

U schizofrenie byla pomocí elektroencefalografie prokázána celá řada abnormit a to jak ve vztahu k pozitivní, tak i k negativní symptomatologii, nicméně zjištěná data dosud byla nekonzistentní a vzhledem k tomu, že autoři považují z behaviorálního hlediska za nejvhodnější model glutamatergní, použijí ho k formulaci hypotéz a jejich testování jak v animálních, tak v humánních modelech psychóz.

V dalších experimentech s použitím specifických antagonistů se autor zaměřil především na roli dopaminových D2 a serotoninových 5-HT1A a 5-HT2A/C receptorů v mechanismu účinku behaviorálních změn v modelu glutamatergním a serotonergním.

Dizertant na základě svých experimentů může konstatovat, že každý z použitých modelů může v závislosti na typu hodnoceného chování sloužit jako model psychózy a uvádí pozorované výsledky v tabulce.

Z fenomenologického hlediska nejvíce podobnosti nachází v modelu glutamatergním, méně

již v modelech serotonergním a dopaminergním.

Experimenty též potvrdily, že pro normalizaci indukovaných změn lze efektivně využívat jak blokádu dopaminových D2 a serotoninových 5-HT2A receptorů, eventuelně i jejich kombinaci. Také byl prokázán jistý vliv snížení celkového tonu serotonergního systému cestou tryptofanové deplece a ovlivněním presynaptických 5-HT1A receptorů.

Z Á V Ě R :

Vlastní dizertační práci podává autor stručně, jasně, přehledně a v pěkné logické struktuře a návaznosti na 55 stranách vlastního textu, doplněného bohatým příslušenstvím kopií publikovaných prací ve dvou přílohách, seznamem publikací s IF a seznamem citací, jenž má přiměřený rozsah a aktuálnost.

Z příloh je též patrné, že autor věnuje značnou pozornost i praktickému uplatnění svých znalostí a zjištění i v rámci podpory protidrogové politiky a problematiky drog, zejména drog tanečních.

Autora zajímá zejména neurochemický pohled na schizofrenii, jež je z tohoto aspektu vnímána jako dysfunkce systémů glutamatergního, dopaminergního a serotonergního a zejména jejich interakce a role v patogenezi schizofrenie, která není dostatečně probádána.

Vyslovuje proto plauzibilní hypotézy, které se snaží testovat s pomocí animálních modelů psychóz a na základě znalostí interakce drog s neurotransmisními systémy a jejich behaviorální a EEG koreláty.

Svémi mnoha fasetami, jež upoutají zejména po prolísování příloh a jež, myslím, odrážejí snahu autora řešit otázky a problémy, naskytující se během postupu práce, se stává studie příkladnou svým souhrnem výsledků a svými závěry.

Práce je také dokladem metodického rozvoje experimentální práce v psychiatrii, kterou dizertant využil pro testování stanovených hypotéz

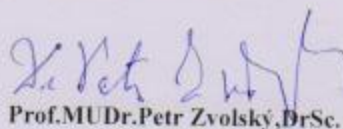
Působení drog na lidské chování zajímá psychiatrii od dávna, v českém prostředí jmenujme tak různé osobnosti jako prof. Vondráčka a Stanislava Grofa a celou, abych tak řekl, psychotherapeutickou LSD generaci.

Zajímalo by mě srovnání současných koncepcí a metod se stavem, pravděpodobně zachyceným v Roubíčkových „Experimentálních psychózách“.

Domnívám se, že práce více než dosvědčuje schopnost autora pro soustředěnou a invenční vědeckou práci, zcela splňuje požadavky příslušného zákona.

Doporučuji, aby práce byla přijata k obhajobě k udělení titulu PhD.

V Praze, dne 28.2.2009.


Prof. MUDr. Petr Zvolský, DrSc.

prof. MUDr. Petr ZVOLSKÝ, DrSc.