

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: BBI



Markéta Chvojková

Vliv antagonistů NMDA receptorů na chování

The Behavioral Effects of NMDA Receptor Antagonists

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Karel Valeš, PhD.

Praha, 2011

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 6. 5. 2011

Markéta Chvojková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Karlu Valešovi, PhD. za ochotu, trpělivost a cenné rady při psaní této práce.

Abstrakt

NMDA (N-methyl-D-aspartátové) receptory jsou glutamátem řízené iontové kanály, nacházející se v centrální nervové soustavě. Umožňují excitační neurotransmisi a mají zásadní význam pro synaptickou plasticitu a další funkce, ale na druhou stranu i excitotoxicitu. Podáním antagonistů NMDA receptorů by bylo možné omezit následky nadměrného působení glutamátu. Použití mnoha těchto látek ale znemožňují závažné behaviorální účinky. Antagonisté NMDA receptorů mohou ovlivňovat kognitivní schopnosti či motoriku laboratorních zvířat i lidí a dočasně u nich vyvolat psychotický stav. Tento negativní vliv na chování je výrazný hlavně u antagonistů nekompetitivních. Naopak u zástupců antagonistů unkompetitivních, selektivních pro NMDA receptor obsahující NR2B podjednotku či antagonistů glycinového vazebného místa NMDA receptoru jsou nežádoucí behaviorální účinky mírnější.

Jiné vlivy antagonistů NMDA receptorů na chování jsou z klinického pohledu přínosné. Jde především o anxiolytické a antidepresivní působení a dále o zmírnění kognitivního deficitu a behaviorálních odchylek při Alzheimerově chorobě podáváním memantinu.

Cílem této práce je shrnout hlavní známé behaviorální účinky jednotlivých farmakologických skupin antagonistů NMDA receptorů v experimentálních podmínkách, a to i s ohledem na potenciální využití těchto látek.

Klíčová slova: NMDA receptor, NMDA antagonisté, glutamát, excitotoxicita, kognitivní funkce, neuroprotektce

Abstract

NMDA (N-methyl-D-aspartate) receptors are glutamate-gated ion channels, which are located in the central nervous system. They permit excitatory neurotransmission and are crucial for synaptic plasticity and other functions, but on the other hand for excitotoxicity. By the administration of NMDA receptor antagonists it would be possible to restrict the consequences of excessive glutamate exposure. However, the use of many of these drugs is made impossible by their serious behavioral side effects. NMDA receptor antagonists can influence cognitive and motor functions in laboratory animals and also in humans, and can cause temporary psychosis. These negative behavioral effects are most pronounced in the case of non-competitive antagonists. Conversely, the behavioral side effects of uncompetitive antagonists, antagonists selective for NMDA receptors containing a NR2B subunit or NMDA receptor glycine binding site antagonists are milder.

From a clinical point of view, some other behavioral effects of NMDA receptor antagonists are beneficial. These effects include anxiolytic and antidepressant effects and also an alleviation of cognitive deficit and behavioral aberration in Alzheimer's disease through the administration of memantine.

The aim of this thesis is to summarize the main behavioral effects known to us of individual pharmacological groups of NMDA receptor antagonists under experimental conditions, including in regard to their possible utilization.

Key words: NMDA receptor, NMDA antagonists, glutamate, excitotoxicity, cognitive functions, neuroprotection

Seznam zkratek

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionát
AP5	D-2-amino-5-fosfonopentanoát
AP7	D-2-amino-7-fosfonoheptanoát
CaMKII	Ca ²⁺ /kalmmodulin-dependentní proteinkináza II
CNS	centrální nervový systém
CPP	kyselina 3-(2-karboxypiperazin-4-yl)propyl-1-fosfonová
CREB	transkripční faktor aktivovaný cAMP (cAMP response element-binding)
EEG	elektroencefalogram
EPM	vyvýšené křížové bludiště (elevated plus maze)
FST	test nuceného plavání (forced swim test)
LTD	dlouhodobá deprese (long-term depression)
LTP	dlouhodobá potenciace (long-term potentiation)
L701,324	7-chloro-4-hydroxy-3-(3-fenoxy)fenyl-2(1H)-quinolon
MK-801	dizocilpin
NMDA	N-methyl-D-aspartát
PCP	fencyklidin

Obsah

Úvod.....	8
1 Obecná charakteristika NMDA receptoru.....	10
1.1 Struktura NMDA receptoru	10
1.2 Aktivace a modulace NMDA receptoru	11
1.3 Funkce NMDA receptorů	12
1.3.1 Fyziologické funkce NMDA receptorů.....	12
1.3.2 Role NMDA receptorů v patologických stavech	14
2 Farmakologické rozdělení antagonistů NMDA receptorů	14
3 Vliv antagonistů NMDA receptorů na chování	17
3.1 Hodnocení vlivů antagonistů NMDA receptorů na chování	17
3.2 Kompetitivní antagonisté.....	18
3.2.1 Anxiolytický účinek.....	18
3.2.2 Antidepresivní účinek	19
3.2.3 Psychotomimetické účinky	19
3.3 Antagonisté glycinového vazebného místa.....	20
3.3.1 Anxiolytický účinek.....	20
3.3.2 Vliv na učení a paměť	20
3.3.3 Vztah k psychotomimetickým účinkům.....	20
3.4 Nekompetitivní antagonisté	21
3.4.1 Anxiolytický účinek.....	21
3.4.2 Antidepresivní účinek	22
3.4.3 Vliv na lokomoční aktivitu	22
3.4.4 Indukce kognitivního deficitu	23
3.4.5 Psychotomimetický potenciál	24
3.5 Antagonisté selektivní pro NR2B podjednotku.....	26
3.5.1 Anxiolytický a antidepresivní účinek	26
3.5.2 Další behaviorální účinky	27
3.6 Unkompetitivní antagonisté.....	27
3.6.1 Anxiolytický účinek.....	27
3.6.2 Antidepresivní a antimanický účinek.....	28
3.6.3 Vliv na kognitivní funkce	28
3.6.4 Vztah k psychotomimetickým účinkům.....	29
Závěr.....	30
Přehled použité literatury	32

Úvod

NMDA receptory jsou ionotropní receptory, které po své aktivaci umožňují průtok Na^+ a Ca^{2+} do buňky a K^+ z buňky. Jejich ligandem je glutamát. Tato aminokyselina představuje hlavní excitační neurotransmitter mozku obratlovců. Glutamátergí receptory se vyskytují na značném podílu neuronů po celém centrálním nervovém systému (CNS).

Přestože bylo již delší dobu známo, že se glutamát v CNS nachází, až v 60. letech 20. století se začaly objevovat studie naznačující, že by zde mohl sloužit jako excitační neurotransmitter (Curtis et al 1960), což bylo později potvrzeno. Glutamát řídí dvě hlavní skupiny receptorů, a to ionotropní a metabotropní. Koncem 70. let 20. století byly ionotropní glutamátové receptory rozděleny na NMDA, AMPA a kainátové receptory (Liu & Zhang 2000). Tyto skupiny receptorů se liší svou funkcí a farmakologickými vlastnostmi. Jsou pojmenované podle svých selektivních agonistů, kterými jsou N-methyl-D-aspartát (NMDA), α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionát (AMPA) a kainát. Pro značnou odlišnost NMDA receptorů od zbylých dvou skupin se někdy AMPA a kainátové receptory označují jako non-NMDA receptory.

NMDA receptory jsou exprimovány ve většině mozkových struktur. Výsledky studií dokládají jejich četný výskyt v hipokampu, dále také v Purkyňových buňkách mozečku, mozkové kůře i dalších strukturách, a to především postsynapticky (Petralia et al 1994), avšak i extrasynapticky (Arundine & Tymianski 2003). Nacházejí se i na některých gliových buňkách (Muller et al 1993) a pro úplnost nutno zmínit, že byly nalezeny i mimo CNS (Dingledine et al 1999).

NMDA receptory hrají zásadní roli v mnoha fyziologických procesech včetně učení a paměti. Zablokování NMDA receptorů pomocí jejich antagonistů je proto zásahem do funkce mozku a vcelku pochopitelně se neobejde bez následků. Antagonisté NMDA receptorů interagují mimo jiné s procesy spojenými s kognitivními funkcemi, emocionalitou a lokomoční aktivitou, což se projeví změnou chování.

Jedním z nejstarších a také nejznámějších antagonistů NMDA receptorů je disociativní anestetikum fencyklidin (PCP). Disociativní anestetika představují zvláštní skupinu farmak, lišící se svým účinkem od ostatních celkových anestetik (Hess 2006b). Vyvolávají stav vyznačující se katalepsií, analgezií a snížením reakcí na vnější podněty, přičemž vědomí je zachováno (Muir & Lees 1995). Název této skupiny anestetik souvisí s disociací mezi talamoneokortikálním a limbickým systémem, jež byla po jejich podání pozorována na EEG. PCP byl do klinické praxe zaveden v 50. letech 20. století. Záhy však vyšlo najevo, že

u pacientů způsobuje psychotické stavy, které nápadně připomínají schizofrenii (Muir & Lees 1995). Teprve o tři desítky let později bylo zjištěno, že místem jeho účinku jsou právě NMDA receptory (Anis et al 1983). Nežádoucí účinky PCP znemožnily jeho další používání, avšak antagonisté NMDA receptorů se stali nástrojem pro výzkum podstaty psychotických onemocnění a funkce NMDA receptorů ve zdraví a nemoci.

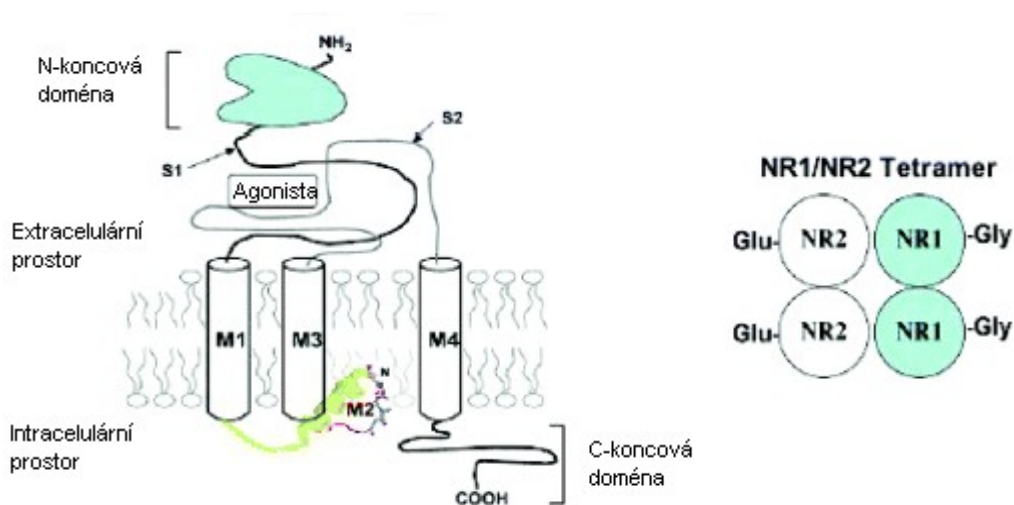
Zájem o antagonisty NMDA receptorů vzrostl v 80. a 90. letech po objevení jejich neuroprotektivních účinků (Himmelseher et al 1996). Proto začali být považováni za nadějně potenciální léky, které by mohly zabránit neurotoickým účinkům glutamátu při různých obtížně řešitelných akutních i chronických patologických stavech. Postupně byly vyvíjeny další látky blokující NMDA receptory, avšak velká část z nich se opět ukázala jako nepoužitelná právě kvůli závažným účinkům na chování.

V této práci se po stručném objasnění struktury a funkce NMDA receptoru zaměřuji na behaviorální účinky jednotlivých farmakologických skupin antagonistů tohoto receptoru. Zohledňuji i význam těchto poznatků pro klinickou praxi. Popis dalších účinků antagonistů NMDA receptorů, netýkajících se chování, však není cílem mé práce. Rovněž se nebudu zabývat parciálními agonisty NMDA receptorů ani jinými látkami, ovlivňujícími glutamatergní neurotransmisi.

1 Obecná charakteristika NMDA receptoru

1.1 Struktura NMDA receptoru

Nativní NMDA receptory jsou pravděpodobně tetramery, obsahující NR1, NR2 a nebo někdy i NR3 podjednotku (Chen & Lipton 2006). Každá z podjednotek NMDA receptoru má tři transmembránové domény, označované M1, M3 a M4. Mezi M1 a M3 je membránová smyčka M2, která tvoří pór iontového kanálu. N-konec proteinu se nachází vně buňky, zatímco C-konec je umístěn v cytoplasmě (Dingledine et al 1999). Extracelulární domény S1 (nacházející se před M1 doménou) a S2 (mezi M3 a M4) se účastní vazby agonisty (obr. 1) (Dingledine et al 1999; Chen & Lipton 2006).



Obr. 1 – Struktura NMDA receptoru. Vlevo: Struktura jedné podjednotky NMDA receptoru s transmembránovými doménami M1, M3 a M4, membránovou smyčkou M2 tvořící selektivní filtr iontového kanálu a s extracelulárními doménami S1 a S2, které se účastní vazby agonisty. Vpravo: Schematické znázornění NMDA receptoru jako heterotetrameru složeného ze dvou NR1 podjednotek s vazebnými místy pro glycin a dvou NR2 podjednotek s vazebnými místy pro glutamát (upraveno podle Chen & Lipton 2006).

Existuje osm isoformů podjednotky NR1, které vznikají alternativním sestřihem. Kromě toho rozlišujeme čtyři různé podjednotky NR2. Označují se NR2A – NR2D, přičemž každá z nich je kódována svým vlastním genem (Dingledine et al 1999). Rozložení jednotlivých NR2 podjednotek v mozku není rovnoměrné. V mozku člověka i hlodavců platí, že NR2A a NR2B podjednotky převládají v předním mozku, zatímco NR2C se hojně vyskytuje v mozečku a NR2D v mezimozku a středním mozku. Receptory složené z NR1 podjednotky a různých NR2 podjednotek vykazují odlišné funkční a farmakologické vlastnosti (Kew & Kemp 2005). Zastoupení jednotlivých NR2 podjednotek se mění také v průběhu vývoje (Liu & Zhang 2000).

Součástí NMDA receptorů může být i NR3 podjednotka. V tomto případě je receptor nejspíše tvořen všemi třemi typy podjednotek – NR1, NR2 i NR3. Jedna z NR2 podjednotek je pravděpodobně nahrazena NR3 podjednotkou. Podobně jako u NR2 podjednotek, rozložení NR3 podjednotek v rámci CNS i jejich výskyt během vývoje nejsou rovnoměrné (Kew & Kemp 2005).

Pro normální funkci NMDA receptoru a její regulaci jsou nezbytné i posttranslační modifikace podjednotek receptoru, kterými jsou glykosylace, fosforylace (Dingledine et al 1999) a palmitoylace (Hayashi et al 2009).

1.2 Aktivace a modulace NMDA receptoru

Na rozdíl od ostatních ligandem řízených iontových kanálů, pro aktivaci NMDA receptoru je nutné navázání dvou endogenních koagonistů – glutamátu a glycinu. Je potřeba obsadit dvě glutamátová vazebná místa (po jednom na obou NR2 podjednotkách) a dvě glycinová vazebná místa (na NR1 podjednotkách) (Kew & Kemp 2005).

Další jedinečnou vlastností NMDA receptoru je to, že jeho aktivace závisí nejen na vazbě koagonistů, ale i na membránovém potenciálu. Při klidovém membránovém potenciálu je většina NMDA receptorů blokována Mg^{2+} ionty, které se váží uvnitř jejich iontových kanálů, což velmi snižuje průtok iontů. Teprve depolarizace neuronu umožní jejich uvolnění a následný průtok iontů. Depolarizace může být vyvolána například aktivací AMPA receptorů, které se často vyskytují postsynapticky společně s NMDA receptory (Dingledine et al 1999). Toto řízení NMDA receptoru zároveň ligandy i napětím souvisí s jeho fyziologickou funkcí při dlouhodobé potenciaci (LTP) (Lynch 2004).

Iontový kanál NMDA receptoru je po aktivaci propustný pro Na^+ , Ca^{2+} a K^+ ionty (Liu & Zhang 2000). Zvláště vtok Ca^{2+} iontů do buňky je charakteristický pro NMDA receptor a má zásadní význam pro fyziologické (Lynch 2004) i patofyziologické (Arundine & Tymianski 2003) procesy, kterých se tento receptor účastní.

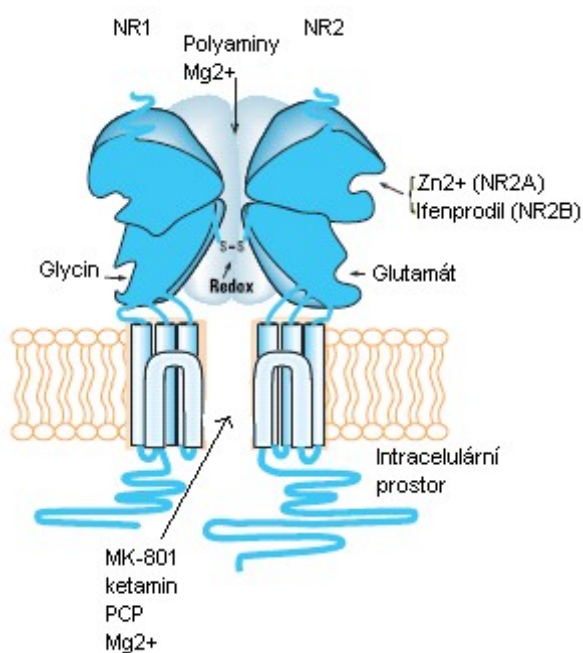
V souvislosti s aktivací NMDA receptoru je vhodné zdůraznit jeho výrazně pomalejší kinetiku otvírání, ve srovnání například s AMPA receptory (Wollmuth & Sobolevsky 2004).

Kromě vazebných míst pro agonisty má NMDA receptor i vazebná místa pro mnoho dalších endogenních ligandů, které moduluji jeho aktivitu. Sem patří vazebná místa pro H^+ , Zn^{2+} ionty a polyaminové vazebné místo (Liu & Zhang 2000). Přitom platí, že například H^+ a Zn^{2+} ionty a některé sulfatované steroidy funkci receptoru inhibují, zatímco polyaminy, jiné sulfatované steroidy a další látky mají efekt potenciační (Dingledine et al 1999). Nelze ovšem

řící, že tomu tak je bez výjimky vždy. Situace je složitější, jelikož účinky některých látek mohou záviset na podjednotkovém složení receptoru nebo přítomnosti agonisty (Kew & Kemp 2005).

Kromě alosterické modulace endogenními ligandy může být funkce receptoru potenciována i fosforylací, především pomocí proteinkinázy C a tyrosinkinázy (Liu & Zhang 2000).

Pro tuto práci je podstatné, že existence mnoha vazebných míst a relativně složitá kinetika NMDA receptoru poskytují možnost jej různě ovlivňovat exogenními látkami, jakými jsou i jeho antagonisté (obr. 2).



Obr. 2 – NMDA receptor s jeho hlavními vazebnými místy. Jsou zobrazena vazebná místa agonistů receptoru (na která se mohou vázat i příslušní antagonisté) a vazebná místa některých jeho modulátorů (polyaminy, Mg²⁺, Zn²⁺). Obrázek rovněž ukazuje vazebná místa nekompetitivních antagonistů NMDA receptoru, a sice ifenprodilu na NR2B podjednotce a MK-801, ketaminu a PCP uvnitř iontového kanálu (upraveno podle Kemp & McKernan 2002).

1.3 Funkce NMDA receptorů

1.3.1 Fyziologické funkce NMDA receptorů

NMDA receptory hrají zásadní roli v synaptické plasticitě, tedy schopnosti měnit sílu spojení mezi neurony v závislosti na jejich aktivaci, což je obecně považováno za základ učení a paměti (Lynch 2004). Konkrétně toho může být dosaženo LTP a dlouhodobou depresí (LTD) (Malenka & Bear 2004). Předchozí domněnky, že při učení probíhá v oblasti hipokampu LTP, byly potvrzeny v relativně nedávné době (Whitlock et al 2006).

Indukce LTP ve velké části hipokampu i v některých jiných částech mozku závisí na NMDA receptorech (Lynch 2004). Během LTP, vyvolané vysokofrekvenční stimulací neuronu, dochází k depolarizaci membrány a tím k aktivaci NMDA receptorů a otevření jejich iontových kanálů. To umožní vtok Ca^{2+} iontů do postsynaptického neuronu, klíčový pro aktivaci kináz (hlavně kinázy CaMKII) a tím i pro následné změny vedoucí nakonec k posílení přenosu mezi dvěma zúčastněnými neurony. Posílení přenosu mezi neurony bývá zprostředkováno fosforylací postsynaptických AMPA receptorů, což zvýší jejich vodivost. Rovněž může být zvýšen počet postsynaptických AMPA receptorů (Lynch 2004).

Změny v této tzv. časně fázi LTP umožňují pouze krátkodobé posílení synaptického spojení. Podstatně delší trvání má tzv. pozdní fáze LTP. Při ní, na rozdíl od časně fáze, dochází v postsynaptickém neuronu k syntéze nových proteinů, genové transkripci a morfologickým změnám synapse. Důležitou úlohu pro zprostředkování těchto změn má aktivace transkripčního faktoru CREB (Malenka & Bear 2004).

Vzhledem k tomu, že indukce LTP ve většině případů závisí na NMDA receptorech, lze jejich zablokováním LTP znemožnit (Lynch 2004). Tuto skutečnost potvrzují výsledky experimentů, které ukazují, že zablokování NMDA receptorů podaným antagonistou snižuje efektivitu následného prostorového učení, ale nemá vliv na dříve zapamatované informace (Morris 1989).

Kromě všeobecně přijímané účasti hipokampálních NMDA receptorů v procesech učení a paměti se předpokládá i jejich význam pro emocionalitu, především pro úzkost, jak ostatně dokládají právě experimenty s antagonisty NMDA receptorů (Nascimento Hackl & Carobrez 2007).

Funkční NMDA receptory jsou klíčové nejen pro normální činnost dospělého mozku, ale i pro jeho vývoj. Napomáhají totiž správné migraci neuronů ve vyvíjejícím se kortexu (Behar et al 1999) i dalším prenatalním i postnatalním procesům, nutným pro vznik plně funkčního CNS. Blokáda NMDA receptorů v určitých kritických obdobích vývoje proto může mít dalekosáhlé důsledky (Nemeth et al 2002; Uehara et al 2009; Uehara et al 2010).

Vzhledem k značné složitosti mozku a k tomu, že jeho funkce nemůžeme zdaleka považovat za zcela prozkoumané, lze předpokládat i možné vlivy NMDA receptorů na další fyziologické funkce a projevy chování.

1.3.2 Role NMDA receptorů v patologických stavech

Glutamát, hlavní excitační neurotransmitter mozku, hraje za určitých okolností roli i v patologických procesech, konkrétně především v excitotoxicitě. Ta může nastat v důsledku nadměrné aktivace glutamátergních receptorů, zejména NMDA receptorů, prostřednictvím velkého množství glutamátu. Následné patologické zvýšení intracelulární hladiny Ca^{2+} může spustit procesy, které mohou aktivovat buněčnou smrt (Arundine & Tymianski 2003).

K excitotoxickému poškození nejspíš dochází při akutních stavech, jako je ischemie, trauma hlavy nebo status epilepticus, ale pravděpodobně i při některých chronických neurodegenerativních onemocněních, kterými jsou například Parkinsonova, Alzheimerova a Huntingtonova choroba (Olney 2003).

Ze zmíněného mechanismu excitotoxického poškození neuronu vyplývá, že zablokováním NMDA receptorů by bylo možné předejít nevratným poškozením, jejichž terapie není v současné době uspokojivá. To je jeden z důvodů, proč je antagonistům NMDA receptorů věnována zvýšená pozornost (Chen & Lipton 2006; Kemp & McKernan 2002).

NMDA receptory se kromě toho mohou účastnit určitých centrálních změn synaptické excitability, které spolu s jinými faktory mohou vést k neuropatické bolesti. Její vznik hrozí při poškození periferních tkání a nervů a je mnohdy obtížně zvládnutelná současnými léky. Synaptická plasticita zprostředkovaná NMDA receptory se navíc nejspíš podílí i na vzniku lékové senzitivace, tolerance (například vůči opioidům) nebo závislosti (Parsons 2001).

Také tyto problémy by mohly být řešeny podáním vhodných antagonistů NMDA receptorů. Klinické použití značné části známých antagonistů je však bohužel znemožněno mimo jiné tím, že tyto látky často interagují nejen s patologickou, ale i s normální funkcí NMDA receptorů, čímž vedou k závažným účinkům včetně těch behaviorálních. Proto je nutné hledat léčiva působící pouze na patologické procesy (Parsons 2001).

Kromě výše zmíněných patologických stavů se dysfunkce NMDA receptorů předpokládá i při některých jiných onemocněních, zejména při schizofrenii (Moghaddam & Jackson 2003).

2 Farmakologické rozdělení antagonistů NMDA receptorů

Antagonista receptoru je takový jeho ligand, který se na receptor váže, ale neaktivuje jej. Po svém navázání různými mechanismy brání účinku agonisty. Má tedy, řečeno jinými slovy, k receptoru afinitu, ale na rozdíl od agonisty má velmi nízkou vnitřní aktivitu

(„efficacy“) pro vyvolání odpovědi, tedy aktivace receptoru. Antagonisty rozdělujeme do několika skupin podle jejich farmakologických vlastností (Hynie 2001).

Kompetitivní antagonisté jsou látky, které se váží na stejné vazebné místo jako agonista receptoru. Tento druh antagonisty zabrání aktivaci receptoru agonistou jednoduše obsazením jeho vazebného místa. Z mechanismu jeho účinku vyplývá, že výsledný efekt bude záviset i na poměru koncentrací kompetitivního antagonisty a agonisty (Wenke et al 1983). V případě NMDA receptoru se pojmem „kompetitivní antagonisté“ často označují pouze antagonisté glutamátového vazebného místa (Muir & Lees 1995; Parsons 2001). Toho se budu držet i ve své práci.

Kvůli jejich mechanismu působení nelze zástupce kompetitivních antagonistů NMDA receptorů pravděpodobně využít jako neuroprotektivní léčiva. V místech mozku s patologicky zvýšenou hladinou glutamátu (kde by bylo žádoucí blokadou NMDA receptorů předejít excitotoxickému poškození) je účinek kompetitivních antagonistů pouze malý. Jsou vytlačeny nadbytkem glutamátu. Naopak ve zdravých oblastech s normální koncentrací glutamátu se kompetitivní antagonisté více uplatní a kompeticí s endogenním agonistou zabraňují fyziologické aktivitě NMDA receptorů a způsobují nežádoucí účinky (Chen & Lipton 2006).

Mezi nejznámější kompetitivní antagonisy NMDA receptoru patří deriváty krátkých aminokyselin, jako je AP5 (D-2-amino-5-fosfonopentanoát) či AP7 (D-2-amino-7-fosfonoheptanoát) (Dingledine et al 1999). Dále sem zařazujeme také CPP (kyselina 3-(2-karboxypiperazin-4-yl)propyl-1-fosfonová) a jeho dva deriváty, které se původně zdály být nadějnými budoucími léky proti excitotoxickému poškození, a sice midafotel (CPPen) a selfotel (označovaný také CGS 19755) (Muir & Lees 1995).

Jinou skupinou antagonistů jsou antagonisté glycinového místa NMDA receptoru. To se s ohledem na svoji odlišnost od jiného glycinového vazebného místa v CNS označuje jako strychnin-insenzitivní nebo také glycin_B vazebné místo (Parsons 2001).

Mezi antagonisy glycinového vazebného místa má jakožto antagonistu endogenní zvláštní postavení kyselina kynurenová (Erhardt et al 1997). Kromě ní sem patří také její exogenní deriváty, kyseliny 7-chlorokynurenová a 5,7-dichlorokynurenová. Zmíněné látky však špatně procházejí hematoencefalickou bariérou. Proto byly nalezeny nové sloučeniny, který tento nedostatek nemají. Mezi ně řadíme mimo jiné látku označovanou L701,324 (7-chloro-4-hydroxy-3-(3-fenoxy)fenyl-2(1H)-quinolon) (Kotlinska & Liljequist 1998).

Další skupinu antagonistů tvoří antagonisté nekompetitivní, kteří se váží mimo vazebné místo agonisty a alostericky brání aktivaci receptoru agonistou. Jejich účinek nelze zmírnit vysokou koncentrací agonisty (Wenke et al 1983).

Nejznámějšími zástupci nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů jsou disociativní anestetika ketamin a PCP a také dizocilpin (MK-801) a dextrometorfan (Muir & Lees 1995). Vazebné místo těchto látek se nachází uvnitř iontového kanálu NMDA receptoru (Ellison 1995; Muir & Lees 1995).

Ketamin se v současnosti používá v medicíně především jako anestetikum. Jeho použití je ale omezené pro psychotomimetické vedlejší účinky. Protože děti jsou k těmto účinkům méně citlivé, užívá se ketamin spíše u nich než u dospělých. PCP se jako anestetikum používal jen krátce. Jeho psychotomimetické účinky byly natolik výrazné, dlouhotrvající a těžko ovlivnitelné, že muselo být jeho používání zastaveno (Hess 2006a). Právě tyto účinky jsou důvodem zneužívání PCP i ketaminu narkomany.

Ketamin a PCP mohou kromě svého účinku na NMDA receptorech působit i na dopaminergní a serotonergní systém (Kapur & Seeman 2002). Na rozdíl od ketaminu a PCP je MK-801 vysoce selektivním antagonistou NMDA receptorů a také má vyšší farmakologickou potenci. Z těchto důvodů je často používán při studiu účinků nekompetitivních antagonistů u laboratorních zvířat. V medicíně se jako lék nepoužívá (Ellison 1995).

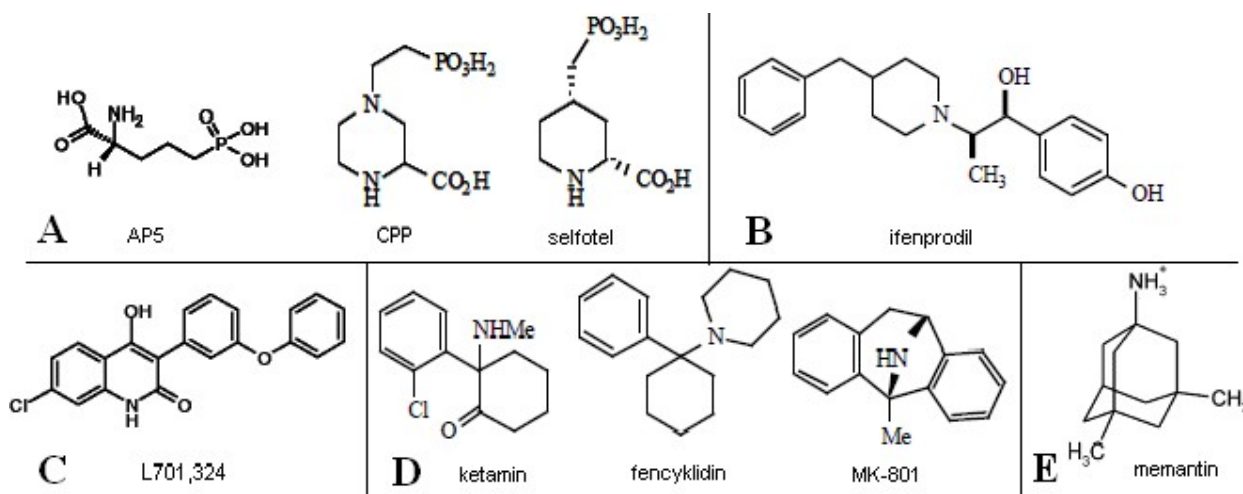
Nekompetitivně se na receptor váží také fenylethanolaminy jako ifenprodil a eliprodil. Protože pro svou vazbu vyžadují NR2B podjednotku, blokují takovéto látky pouze ty NMDA receptory, které zmíněnou podjednotku obsahují (Dingledine et al 1999). Navzdory dřívějším domněnkám se neváží na polyaminové vazebné místo NMDA receptoru, nýbrž na odlišné místo, které s polyaminovým místem alostericky interaguje (Kew & Kemp 1998).

Ifenprodil navíc preferenčně blokuje trvale aktivované receptory, což přispívá k jeho příznivému terapeutickému profilu bez vážných nežádoucích účinků, typických pro mnoho jiných NMDA antagonistů (Kemp & McKernan 2002). Protože ifenprodil, eliprodil a některé příbuzné látky se neváží jen na NMDA receptory, ale například i na určité serotonergní receptory, byly vyvinuty deriváty ifenprodilu s vyšší selektivitou pro NMDA receptory (Dingledine et al 1999).

Farmakologické zařazení určitých NMDA antagonistů však není zcela jednoznačné. Neshody se týkají hlavně látek, jejichž vazebné místo je uvnitř iontového kanálu receptoru. Někteří autoři tak považují například ketamin a dextrometorfan (Parsons 2001) nebo i PCP a MK-801 za antagonisty unkompetitivní (Dingledine et al 1999).

Pro skupinu antagonistů, jejichž vazba je možná pouze při určitém konformačním stavu receptoru, byl zaveden termín unkompetitivní antagonisté. Na receptor se mohou vázat pouze v případě, že byl předtím aktivován agonistou a jeho iontový kanál je otevřený. Právě on je místem účinku unkompetitivních antagonistů, fungujících tak jako blokátory otevřeného iontového kanálu (Chen & Lipton 2006; Parsons 2001). Unkompetitivní antagonisté účinkují silněji v těch místech mozku, kde je vyšší koncentrace agonisty. Je tomu tak jednoduše proto, že se zde nachází větší množství otevřených, a tudíž zablokovatelných iontových kanálů NMDA receptorů. Oproti tomu v oblastech s normální koncentrací glutamátu působí méně, čímž pravděpodobně poskytují možnost zabránit excitotoxicitě bez současného výraznějšího omezení fyziologické funkce NMDA receptorů (Chen & Lipton 2006).

Na tomto principu funguje i memantin, asi nejznámější zástupce unkompetitivních antagonistů (Chen & Lipton 2006), v současnosti používaný při léčbě Alzheimerovy choroby (Gauthier et al 2008).



Obr. 3 – Chemická struktura vybraných antagonistů NMDA receptorů. Obrázek ukazuje kompetitivní antagonisty (A), antagonistu NMDA receptorů obsahujících NR2B podjednotku (B), antagonistu glycinového vazebného místa (C) a antagonisty nekompetitivní (D) a unkompetitivní (E). (AP5 a L701,324 – převzato z Kew & Kemp 2005, memantin – převzato z Parsons 2001, ostatní vzorce převzaty z Nikam & Meltzer 2002.)

3 Vliv antagonistů NMDA receptorů na chování

3.1 Hodnocení vlivů antagonistů NMDA receptorů na chování

Převážné množství prací zabývajících se vlivem antagonistů NMDA receptorů na chování používá jako modelový organismus laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*). Proto budu vycházet hlavně z nich. Méně často se používá i myš domácí nebo další obratlovci

včetně třeba zástupců primátů nebo ryb. Z klinické praxe a klinických hodnocení (a také z případů zneužívání některých těchto látek narkomany) známe ovšem i účinky určitých antagonistů NMDA receptorů na lidi. Pro jejich zásadní význam některé z nich rovněž zmiňuji. Cílem mé práce však není srovnání vlivů farmak na různé živočišné druhy.

Z minulé kapitoly je zřejmá velká rozmanitost antagonistů NMDA receptorů. Podobně široká je i paleta jejich účinků. Obecně řečeno byly po podání antagonistů pozorovány rozličné změny v chování od ovlivnění lokomoční aktivity přes zhoršení kognitivních schopností (Vales et al 2010) až po vliv na emocionalitu (Engin et al 2009) i na některé jiné okruhy chování.

Přehledné shrnutí vlivů antagonistů NMDA receptorů na chování je navíc komplikováno dalšími okolnostmi. I při studiu účinku konkrétní látky na konkrétní okruh chování se používají různé dávky, způsoby aplikace i úlohy pro studium chování. Tyto odlišné postupy vedou k různým výsledkům, ne vždy porovnatelným a někdy i protichůdným. U některých látek je navíc nutné vzít v úvahu, že kromě NMDA receptorů mohou ovlivňovat i jiné neurotransmitterové systémy mozku (Dingledine et al 1999; Kapur & Seeman 2002).

Jak vyplývá z těchto skutečností, obecné shrnutí vlivů antagonistů NMDA receptorů na chování není zcela bez komplikací. Při jejich posuzování se budu držet výše uvedeného farmakologického rozdělení a soustředím se hlavně na ty látky, které jsou v centru pozornosti.

3.2 Kompetitivní antagonisté

3.2.1 Anxiolytický účinek

Mnozí antagonisté NMDA receptorů včetně zástupců kompetitivních antagonistů vykazují anxiolytické účinky. Takový účinek byl zjištěn i po podání AP5 a je za něj pravděpodobně zodpovědná vazba antagonisty na NMDA receptory ve ventrální části hipokampální formace. Po infuzi AP5 potkanovi přímo do této oblasti došlo ke snížení nepodmíněné úzkosti, což bylo pozorováno ve vyvýšeném křížovém bludišti („elevated plus maze“, EPM), které je obecně považováno za model úzkosti. Pozorované jevy podporují domněnku, že se na zprostředkování chování spojeného s úzkostí podílejí NMDA receptory právě v této oblasti mozku (Nascimento Hackl & Carobrez 2007).

Kromě AP5 byl anxiolytický efekt pozorován i u dalších představitelů kompetitivních antagonistů včetně AP7 a CPP, a to ve více různých animálních modelech úzkosti (Chojnacka-Wojcik et al 2001). Můžeme tedy konstatovat, že látky působící jako kompetitivní antagonisté NMDA receptorů mohou u potkana snižovat úzkost.

3.2.2 Antidepresivní účinek

U kompetitivních antagonistů byly zjištěny i antidepresivní účinky. Konkrétně to bylo pozorováno u laboratorního potkana po jejich intraperitoneálním podání (Przegalinski et al 1997) i po podání přímo do oblasti hipokampu (Padovan & Guimaraes 2004; Przegalinski et al 1997). Antidepresivní účinky farmak lze studovat na animálních modelech deprese, spočívajících v dlouhotrvajících změnách v chování vyvolaných vystavením zvířat stresu. Jedním z nich je i test nuceného plavání („forced swim test“, FST), při kterém se zvíře umístí do nádoby s vodou, ze které nemůže uniknout, což mu způsobí stres. Stres má za následek změny v chování při zopakování procedury další den, projevující se prodloužením doby, kterou zvíře stráví nehybně bez snahy o plavání či únik. Nehybnost se přitom považuje za korelát pocitů beznaděje u depresivních pacientů. Toto chování může být utlumeno podáním kompetitivních NMDA antagonistů AP7 (Padovan & Guimaraes 2004) nebo CGP 37849 (kyselina DL-(E)-2-amino-4-methyl-5-fosfono-3-pentenová) (Przegalinski et al 1997) v době po stresu, což poukazuje na jejich antidepresivní potenciál. Je pravděpodobné, že jejich místem účinku je hipokampus, podobně jako tomu bylo u vlivu AP5 na anxieta (Padovan & Guimaraes 2004; Przegalinski et al 1997). Antidepresivního účinku lze navíc dosáhnout bez současného ovlivnění explorační aktivity (Przegalinski et al 1997).

Mechanismy, kterými vede zablokování NMDA receptorů v hipokampu k pozorovanému efektu, ovšem nejsou zcela známy. Jedním z možných vysvětlení je ovlivnění konsolidace vzpomínky na stresující zážitek (Padovan & Guimaraes 2004).

3.2.3 Psychotomimetické účinky

Podobně jako někteří další antagonisté NMDA receptorů, i kompetitivní antagonisté mohou vyvolávat soubor příznaků připomínající psychózu, byť v menší míře než antagonisté nekompetitivní.

Selfotel neboli CGS 19755 byl původně objektem výzkumu jakožto potenciální lék pro léčbu ischemického poškození mozku, neboť omezuje poškození neuronů v jeho animálním modelu. Klinické pokusy ale odhalily přechodné nežádoucí účinky vyšších dávek v podobě halucinací, rozrušení, zmatenosti a paranoidních reakcí (Grotta et al 1995).

Testování kompetitivních antagonistů jakožto možných léčiv proti excitotoxickému poškození neuronů odhalilo vážné nežádoucí vlivy na chování a nevedlo k úspěchu. V současné době se má za to, že důvodem nežádoucích účinků těchto látek je právě jejich kompetitivní charakter, vedoucí k omezení fyziologické aktivity NMDA receptorů. Z tohoto

důvodu není v současnosti využití kompetitivních antagonistů považováno za příliš pravděpodobné a pozornost vědců se obrátila na jiné, vhodnější látky (Chen & Lipton 2006).

3.3 Antagonisté glycinového vazebného místa

3.3.1 Anxiolytický účinek

Anxiolytický účinek byl pozorován i u antagonistů glycinového vazebného místa NMDA receptoru, ale pouze u některých zástupců. Jedním z nich je L701,324, který po perorálním podání (2,5 a 5 mg/kg) působí u potkana podobně jako klasická anxiolytika. Efekt je závislý na dávce a lze ho pozorovat v podmíněném i nepodmíněném modelu úzkosti. Podané dávky přitom nemají závažné vedlejší účinky, jako například změnu lokomoční aktivity, které by mohly ovlivnit výsledky (Kotlinska & Liljequist 1998).

Oproti tomu někteří jiní antagonisté glycinového vazebného místa NMDA receptorů z nejasných důvodů vykazují jen slabý anxiolytický účinek nebo jej zcela postrádají (Chojnacka-Wojcik et al 2001; Danysz et al 1998).

3.3.2 Vliv na učení a paměť

K testování kognitivních funkcí u laboratorních zvířat se používá více typů úloh, přičemž mezi ty nejfrekventovanější patří úlohy zaměřené na prostorovou paměť, především Morrisovo vodní bludiště. Stručně řečeno jde o kruhovou nádrž s vodou, v níž má potkan za úkol si zapamatovat pozici „ostrůvku“ skrytého pod hladinou.

Na rozdíl od velkého množství ostatních antagonistů NMDA receptorů nemají exogenní antagonisté glycinového místa tak výrazný negativní vliv na učení. Dvě takové látky, kyselina indol-2-karboxylová (v dávce do 50 mg/kg) ani kynurenát (300 mg/kg) učení v Morrisově vodním bludišti neovlivňují (Smith et al 1993).

Výsledky experimentů ukazují, že riziko zhoršení schopnosti učení po podání antagonistů glycinového vazebného místa NMDA receptoru není příliš vysoké.

3.3.3 Vztah k psychotomimetickým účinkům

Pokud jde o psychotomimetické účinky, i v tomto ohledu se exogenní antagonisté glycinového vazebného místa od mnohých dalších antagonistů NMDA receptorů odlišují. Nejen že nemají významný psychotomimetický potenciál (Danysz et al 1998; Karcz-Kubicha et al 1999), ale určité psychotické příznaky i potlačují (Bristow et al 1996; Karcz-Kubicha et

al 1999) a někteří autoři dokonce přirovnávají jejich účinek k účinku atypických antipsychotik (Bristow et al 1996).

Konkrétně to bylo pozorováno u látky označované L-701,324. V experimentu byl hlodavcům podán amfetamin, který vyvolává chování podobné psychóze, pozorovatelné mimo jiné jako hyperaktivita. Tyto projevy jsou spojeny s aktivací mesolimbického dopaminergního systému, ke které dochází i při schizofrenii. Právě hyperaktivitu se povedlo zmírnit podáním zmíněné látky (Bristow et al 1996). Jiní antagonisté NMDA receptorů včetně PCP ale schizofrenii podobné projevy naopak vyvolávají. PCP způsobenou hyperlokomoci se přitom podařilo částečně zmírnit podáním antagonistů glycinového místa NMDA receptoru. Nutno ale podotknout, že tyto látky samy o sobě snižovaly lokomoční aktivitu, což mohlo ovlivnit výsledky (Karcz-Kubicha et al 1999). Důvody opačných účinků této dvojice antagonistů NMDA receptorů nebyly dosud uspokojivě vysvětleny (Bristow et al 1996).

Antagonisté glycinového vazebného místa tedy postrádají závažné účinky na chování, charakteristické především pro antagonisty nekompetitivní. Antagonisté glycinového vazebného místa jsou proto pravděpodobně nadějnější pro možné klinické využití. Mohli by najít uplatnění například v léčbě chronické bolesti, lékové tolerance a závislosti (Parsons 2001) nebo jako neuroprotektivní léčiva (Danysz et al 1998).

3.4 Nekompetitivní antagonisté

3.4.1 Anxiolytický účinek

Také po podání nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů byly v mnoha případech zjištěny anxiolytické účinky.

Ketamin v dávce 50 mg/kg u potkanů potlačuje úzkost, hodnocenou pomocí úlohy EPM (Engin et al 2009). Výsledky další studie tento účinek ketaminu potvrzují (Hayase et al 2006). Na druhou stranu ketamin v dávce 7 mg/kg vykazoval naopak anxiogenní efekt v EPM a také snížil sociální interakce (Silvestre et al 1997). V dalším experimentu ketamin, podaný v dávce 30 mg/kg, neměl na anxieta vliv (Becker et al 2003). O tom, čím je tak velká nejednotnost výsledků způsobena, můžeme jen spekulovat. Výsledky jednotlivých studií každopádně nelze zobecnit a říci, jak ketamin úzkost ovlivňuje. V případě ketaminu je navíc situace komplikována faktem, že kromě glutamatergního může ovlivňovat i dopaminergní a serotonergní systém (Kapur & Seeman 2002).

Anxiolytické účinky má také MK-801. Podání této látky mělo za následek potlačení úzkosti v EPM (Fraser et al 1996; Wieronska et al 2003) i v dalších úlohách (Chojnacka-

Wojcik et al 2001). Existuje přesto menší množství experimentů, které toto přímo nepotvrzují a spíše vedou k nejednoznačným výsledkům. Anxiolytický účinek MK-801 nepotvrzují s ohledem na změny celkové aktivity, které tato látka rovněž vyvolává a které mohou ovlivnit výsledky (Engin et al 2009).

Nekompetitivní antagonisté tedy nepochybně mohou snižovat úzkost. Přesto, jak je zřejmé hlavně z experimentů s ketaminem, nelze takovéto zjištění generalizovat a tvrdit, že to tak platí bez výjimky vždy.

3.4.2 Antidepresivní účinek

Ketamin, podaný potkanům v dávkách 10 i 50 mg/kg, vyvolává účinek podobný účinku klasických antidepresiv (Engin et al 2009). Antidepresivní efekt ketaminu byl zjištěn i u myši (Hayase et al 2006). Podobně působí u potkana i MK-801 (Engin et al 2009).

Silnému antidepresivnímu potenciálu ketaminu nasvědčují i klinické studie. Intravenózní podání nízké dávky ketaminu pacientům s depresí vede ke zmírnění příznaků onemocnění (Berman et al 2000; Price et al 2009; Zarate et al 2006). Účinek navíc na rozdíl od klasických antidepresiv nastupuje velmi rychle (v rámci hodin) a dostavuje se i u pacientů, u kterých předchozí léčba antidepresivy nevedla k úspěchu (Price et al 2009; Zarate et al 2006). Podání ketaminu proto představuje možné řešení akutních stavů, kdy je nutné rychlým zásahem předejít hrozící sebevraždě pacienta (DiazGranados et al 2010; Price et al 2009). Na druhou stranu by ale budoucí využití ketaminu i jiných NMDA antagonistů při léčbě deprese nebo úzkostných poruch mohlo být omezeno psychotomimetickými vedlejšími účinky a nebezpečím jejich zneužití (Berman et al 2000).

3.4.3 Vliv na lokomoční aktivitu

Nekompetitivní antagonisté v určitém rozmezí dávek vyvolávají u potkanů hyperlokomoci (Andine et al 1999; Hayase et al 2006; Vales et al 2010). V případě MK-801 dochází u potkaních samců po podání zmíněné látky (0,2 mg/kg) k signifikantnímu zvýšení lokomoční aktivity a rozvoji stereotypního chování. V dávce 1 mg/kg jsou tyto projevy ještě výraznější. Aktivační účinky MK-801 tím však dosáhly svého maxima a další zvýšení dávky již větší aktivaci nevyvolá. Po podání vyšších dávek MK-801 (již od 0,5 mg/kg pro potkaní samce) se totiž zároveň začíná objevovat ataxie čili porucha koordinace pohybů, projevující se různě silnou tendencí padat při pohybu. Ataxie se zvyšuje s rostoucí dávkou MK-801 a při velmi vysoké dávce (3 mg/kg) už je natolik silná, že prakticky znemožňuje lokomoční aktivitu

(Andine et al 1999). Kromě toho ketamin i MK-801 snižují vertikální aktivitu (tzv. „panáčkování“) (Engin et al 2009).

Po podání ketaminu můžeme také u potkanů sledovat ve větší míře některé nepříliš obvyklé prvky chování. Jsou jimi otočky, kroky vzad a pohyby hlavou ze strany na stranu. Zmíněné projevy souvisí s psychotomimetickým účinkem použité látky (Wilson et al 2007).

Pozorování změn lokomoční aktivity vyvolaných ketaminem a MK-801 vedlo ke zjištění, že citlivost k behaviorálním účinkům nekompetitivních antagonistů není u všech jedinců stejná. Je zde patrný vliv věku a pohlaví. Podání ketaminu (10 mg/kg) vede ke zvýšení aktivity u potkanů obojího pohlaví ve věku 22 dnů. U 35denních zvířat je hyperaktivita pozorovatelná pouze u samic. U 50denních potkanů nemá již ketamin vliv na lokomoční aktivitu u samců ani u samic (Wilson et al 2007). Mladší zvířata a samice jsou tedy v tomto ohledu vnímavější než starší zvířata a samci. Zvýšená citlivost samic je vysvětlována tím, že jejich játra mají menší schopnost metabolizovat tyto látky, než je tomu u samců. Hladina podaných nekompetitivních antagonistů v krvi a mozku je u nich proto mnohonásobně vyšší než u samců. Z tohoto důvodu dojde ke změnám v chování u samic i v dávce, která u stejně starých samců ještě účinky nemá. (Andine et al 1999).

Kromě tohoto vlivu pohlaví a věku může míra ovlivnění lokomoční aktivity aplikací antagonistů NMDA receptorů záviset i na kmeni potkanů (Uehara et al 2010).

3.4.4 Indukce kognitivního deficitu

Nekompetitivní antagonisté NMDA receptorů způsobují zhoršení výsledků v úlohách zaměřených na kognitivní schopnosti. Podání MK-801 před experimentem vede k následnému zhoršení paměti, pozorovatelnému ve více různých prostorových i neprostorových úlohách. Podané dávky (do 0,1 mg/kg) zároveň nevyvolávají jiné zásadní změny v chování, které by mohly vést k chybné interpretaci výsledků. Potkana, kterému je podávána látka MK-801, lze proto považovat za model kognitivní dysfunkce. Rozmezí dávek, které vyvolávají pouze kognitivní deficit, je ale poměrně úzké (van der Staay et al 2011). I v tomto případě navíc záleží na kmeni potkanů. Po podání MK-801 v dávce 0,1 mg/kg bylo u potkanů kmene Wistar zjištěno zhoršení paměti, zatímco paměť potkanů kmene Long-Evans zhoršena nebyla (Vales et al 2006).

Negativní vliv nekompetitivních antagonistů na paměť potvrzují i klinické experimenty. Při infuzi subanestetické dávky ketaminu došlo u zdravých dobrovolníků

ke zhoršení některých aspektů deklarativní paměti a také snížení pozornosti (Malhotra et al 1996).

3.4.5 Psychotomimetický potenciál

Jak bylo řečeno výše, nekompetitivní antagonisté vyvolávají u laboratorních zvířat mimo jiné kognitivní deficit a hyperlokomoci. Zmíněné změny chování zvířat jsou přitom důležité pro svou podobnost s projevy psychotických onemocnění.

Psychotomimetické účinky disociativních anestetik ketaminu a PCP jsou již delší dobu všeobecně známé. V souvislosti s tím stojí za zmínku pokusy prováděné v 60. letech americkým lékařem Johnem Lillym. Ketamin opakovaně aplikoval sám sobě intramuskulárně v různých dávkách. Při dávce asi 0,4 mg/kg pozoroval barevné a pohyblivé vizuální obrazy, při vyšších dávkách pak pocity oddělení od těla, komunikace s neznámými bytostmi. Nejvyšší dávka (4 mg/kg) vyvolala nepopsatelný pocit prázdnoty (Hess 2006b).

Subanestetické dávky ketaminu tedy vyvolávají u zdravých lidí přechodný psychotický stav. Projevuje se příznaky podobnými pozitivním (smyslové iluze, podezíravost, poruchy myšlení) a negativním (poruchy motivace, emoční oploštělost) příznakům schizofrenie. Dále ketamin také způsobuje změny vnímání a negativně ovlivňuje bdělost a paměť (Krystal et al 1994). Subanestetické dávky ketaminu navíc krátkodobě zhoršují psychotické příznaky u pacientů se schizofrenií. Příznaky vyvolané ketaminem a ty, které pacienti měli dříve v akutní fázi svého onemocnění, jsou mnohdy velmi podobné (Lahti et al 1995). Obdobné účinky byly prokázány i u PCP. Přestože ketamin i PCP mohou působit i na jiné receptory, za jejich psychotomimetické účinky je zodpovědná právě jejich vazba na NMDA receptory (Moghaddam & Jackson 2003).

Nápadná podobnost účinků nekompetitivních antagonistů a příznaků schizofrenních pacientů podporuje domněnku, že při této chorobě může hrát roli právě porucha glutamatergního systému (Moghaddam & Jackson 2003). Přesná příčina schizofrenie není v současnosti známá. Ačkoli v dřívější době byla hledána hlavně v dysregulaci dopaminergního systému (Moghaddam & Jackson 2003), podle glutamatergní hypotézy by tato dysregulace mohla být pouze důsledkem hypofunkce NMDA receptorů (Bubenikova-Valesova et al 2008).

Jak bylo již řečeno, psychotomimetické účinky nekompetitivních antagonistů nejsou omezeny jen na lidi. Soubor změn chování u zvířat vyvolaný ketaminem, PCP nebo MK-801 je považován za ekvivalent účinků podobných látek na lidi, přestože samozřejmě nelze

u zvířat vyvolat psychotický stav se všemi jeho aspekty přítomnými u lidí. Chování podobné schizofrenii je u zvířat manifestováno kognitivním deficitem, hyperaktivitou, stereotypií, změnami v sociálním chování a narušením sensorimotorického gatingu (Moghaddam & Jackson 2003). Akutní či chronická aplikace nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů se proto používá k modelování schizofrenii podobného chování u laboratorních zvířat, a to hlavně u potkanů (Bubenikova-Valesova et al 2008).

Některé příznaky (především hyperlokomoci, stereotypní chování, ataxii), vyvolané u potkanů podáním nekompetitivních NMDA antagonistů, lze zmírnit podáním antipsychotik. Jde přitom o antipsychotika běžně používaná k léčbě příznaků psychóz u lidí, a to jak ta klasická, jako je haloperidol, tak i atypická. Také díky této skutečnosti můžeme náš model opravdu považovat za relevantní model psychózy (Andine et al 1999).

Animální model by mohl napomoci lepšímu pochopení podstaty choroby a následnému vývoji účinných léků. To by mělo velký význam vzhledem k tomu, že některé obtíže pacientů (negativní příznaky, kognitivní deficit) mnohdy nelze současnými klasickými antipsychotiky příliš ovlivnit (Moghaddam & Jackson 2003).

Po podání nekompetitivních antagonistů laboratorním potkanům nebyly pozorovány pouze změny v chování. Analýza jejich mozkové tkáně po aplikaci PCP, MK-801, tiletaminu nebo ketaminu ukázala poškození neuronů v posteriorní cingulární a retrosplenální korové oblasti. Cytoplasmu neuronů vyplňovaly vakuoly, vzniklé zřejmě degradací mitochondrií. Tyto neurotoxické léze byly po jednorázovém i opakovaném subkutánním podání nekompetitivních antagonistů pozorovatelné jen přechodně po dobu řádově hodin, ale po vysoké dávce přetrvávaly i déle (Olney et al 1989). Léze byly zjištěny i po podání kompetitivních NMDA antagonistů AP5 a CPP (Olney et al 1991). Antagonisté NMDA receptorů mohou tedy očividně mít jak neuroprotektivní, tak i neurotoxické účinky (Ellison 1995; Hess 2006a).

Řada důkazů ukazuje na pravděpodobnou souvislost neurotoxických změn vyvolaných antagonisty NMDA receptorů s jejich psychotomimetickými účinky. U některých pacientů se schizofrenií nebo s Alzheimerovou chorobou byly navíc nalezeny strukturální a funkční odchylky ve stejných oblastech mozku (Ellison 1995).

Na souvislost blokády NMDA receptorů se schizofrenií poukazuje více skutečností. Přechodné vystavení potkanů nekompetitivním antagonistům (konkrétně MK-801) brzy po narození má za následek změny v chování v brzké dospělosti. Zvířata vykazují kognitivní deficit pozorovatelný jako narušení sensorimotorického gatingu a zesílení hyperlokomoce

vyvolané metamfetaminem v porovnání s kontrolami. Tyto abnormality v chování souvisí s příznaky schizofrenie a stejně jako ony jsou spojeny s dopaminovou supersenzitivitou. Nutno podotknout, že změny se projeví až po pubertě, stejně jako tomu bývá u pozitivních symptomů (bludy, halucinace) u pacientů se schizofrenií. Přesný mechanismus tohoto pozdního účinku nekompetitivních antagonistů nicméně není znám (Uehara et al 2010). Tyto poznatky podporují tzv. neurovývojovou hypotézu původu schizofrenie, dle které je vznik choroby způsoben poruchou vývoje mozku v časném stadiu ontogeneze (Bubenikova-Valesova et al 2008).

Podle další z hypotéz by endogenním původcem blokády NMDA receptorů a tím nepřímo i enormních změn chování při schizofrenii mohla být zvýšená hladina kyseliny kynurenové, působící na glycinovém vazebném místě NMDA receptoru (Erhardt et al 1997).

Ať už je pravý důvod jakýkoli, objev spojitosti mezi schizofrenií a blokádu NMDA receptorů byl pokrokem v pochopení podstaty tohoto onemocnění. K tomuto objevu značně přispěly právě experimenty s antagonisty NMDA receptorů, především s těmi nekompetitivními. Přes všechno úsilí zůstávají ovšem přesné mechanismy psychotomimetických účinků nekompetitivních antagonistů i příčina schizofrenie nejasné.

3.5 Antagonisté selektivní pro NR2B podjednotku

3.5.1 Anxiolytický a antidepresivní účinek

Zvláštní typ nekompetitivního antagonismu představují látky selektivně blokující NMDA receptory obsahující NR2B podjednotku. Co se týče vlivu na emocionalitu, zástupci zmíněných farmak působí anxiolyticky a antidepresivně, podobně jako většina dalších NMDA antagonistů.

Anxiolytické účinky byly konkrétně zjištěny po jednorázové aplikaci ifenprodilu, a to v modelu úzkosti u myší (Fraser et al 1996).

Antidepresivní efekt podobné látky je evidentní i u lidí. Klinická studie ukázala zlepšení stavu depresivních pacientů po infuzi traxoprodilu neboli CP-101,606. Šlo přitom o pacienty, kterým nepomohla běžná léčba selektivními inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI). Podobně jako v případě ketaminu došlo ke zlepšení stavu rychle a ve většině případů efekt přetrvával déle než týden po infuzi. Protože je navíc pravděpodobně možné dosáhnout terapeutické koncentrace bez nežádoucích psychotomimetických účinků, traxoprodil a podobné látky by mohly být perspektivní pro léčbu této skupiny pacientů (Preskorn et al 2008).

3.5.2 Další behaviorální účinky

Výsledky preklinických studií naznačují, že antagonisté selektivní pro NR2B podjednotku NMDA receptoru nemají výrazný vliv na chování (Kemp & McKernan 2002; Parsons 2001).

Zmíněné látky nezpůsobují pozorovatelné zhoršení pracovní (Fraser et al 1996) ani prostorové (Guscott et al 2003) paměti laboratorních zvířat. Nemají nejspíš vliv ani na paměť lidí a nevyvolávají u nich psychotomimetické, excitační či sedačnické projevy, přinejmenším ne po jednorázovém perorálním podání 30 mg v případě eliprodilu (Patat et al 1994). Přesto byly, byť spíše v nižší míře než u jiných NMDA antagonistů, behaviorální změny po podání této skupiny farmak zjištěny. Po infuzi traxoprodilu pacientům s depresí dokonce u několika z nich přechodně došlo k rozvoji psychotických příznaků, což ale bylo možné odstranit úpravou dávky (Preskorn et al 2008).

Z těchto poznatků vyplývá, že NR2B selektivní antagonisté, přestože nejsou zcela prosti nežádoucích behaviorálních účinků, by při vhodném dávkování neměli chování zásadně negativně ovlivňovat.

Nižší výskyt negativních vlivů na chování by bylo možné vysvětlit tím, že tento typ antagonistů může zablokovat pouze určitý podíl NMDA receptorů v mozkové kůře a hipokampu, neboť ne všechny nesou NR2B podjednotku (Parsons 2001).

3.6 Unkompetitivní antagonisté

3.6.1 Anxiolytický účinek

Přestože u unkompetitivních antagonistů (zejména memantinu jakožto léku proti Alzheimerově chorobě) je předmětem zájmu spíše jejich vliv na kognitivní funkce, byly pozorovány i další behaviorální účinky včetně anxiolytického efektu. Konkrétně to bylo objeveno u myši, kterým byla dlouhodobě perorálně podávána poměrně vysoká dávka memantinu (100 mg/kg denně). Nutno zdůraznit, že dávkování a tudíž i plazmatická hladina memantinu byla u těchto myši mnohem vyšší, než tomu běžně bývá například při léčbě pacientů s demencí (Minkeviciene et al 2008).

Zároveň ani takto vysoká dávka memantinu nevedla ke změnám lokomoční aktivity ani k jiným závažným nežádoucím účinkům (Minkeviciene et al 2008). Dobrou toleranci a bezpečnost dlouhodobého perorálního podávání memantinu ostatně potvrzují i výsledky klinických studií (Peskind et al 2006).

3.6.2 Antidepresivní a antimanický účinek

Výsledky experimentů naznačují také antidepresivní působení memantinu. Memantin účinkoval v modelu deprese u potkana (konkrétně ve FST), a to jak po jednorázové intraperitoneální aplikaci (5-20 mg/kg), tak i po opakovaném podávání těchto dávek (Reus et al 2010). Kromě toho memantin, je-li podáván dlouhodobě, snižuje příznaky mánie v jejím animálním modelu vyvolaném ouabainem. To je v souladu s domněnkou, že dysregulace funkce iontových kanálů, patrně i těch N-methyl-D-aspartátových, hraje pravděpodobně roli v patofyziologii manických stavů. Na druhou stranu však jednorázové intraperitoneální podání vyšší dávky memantinu stav spíše zhoršuje (Gao et al 2011).

Znalost vlivů unkompetitivních NMDA antagonistů na emocionalitu není zatím dostačující a pouze další výzkum ukáže, zda by mohli být vhodnou alternativou při léčbě úzkostných, depresivních či bipolárních (maniodepresivních) poruch.

3.6.3 Vliv na kognitivní funkce

Za charakteristickou a pro praktické využití rozhodující vlastnost unkompetitivních NMDA antagonistů je považována absence zásadního negativního vlivu na paměť a dalších nežádoucích účinků. To lze vysvětlit právě jejich unkompetitivním mechanismem působení a relativně nízkou afinitou. Díky tomu nejspíš unkompetitivní antagonisté nepředstavují výrazné omezení pro fyziologické děje a v terapeutických dávkách tedy nezpůsobují závažné behaviorální nežádoucí účinky, typické pro vysokoafinní nekompetitivní antagonisty (Chen & Lipton 2006).

Unkompetitivní NMDA antagonisté (konkrétně memantin a phenytoin) nejenže nemají v experimentech s laboratorními hlodavci negativní vliv na kognitivní schopnosti (Vales et al 2010), ale dokonce je za určitých okolností mohou zlepšovat (Minkeviciene et al 2008). Vylepšení kognitivních schopností lze dosáhnout dlouhodobým perorálním podáváním memantinu vedoucím k stabilní plazmatické hladině této látky. Opakovaná aplikace memantinu (v různých dávkách produkujících plazmatické hladiny 0,5 – 6 μM , přičemž u lidí bývá terapeuticky dosahováno 0,5 – 1 μM) zlepšuje schopnost prostorového učení u myši (Minkeviciene et al 2008).

Tyto výsledky jsou v souladu se zjištěným terapeutickým působením memantinu u pacientů s Alzheimerovou chorobou, při které právě progresivní úpadek kognitivních schopností představuje hlavní problém. Memantin u nich má pozitivní vliv na kognitivní schopnosti a celkově na chování a byl schválen pro léčbu středního a těžkého stupně tohoto

onemocnění. Účinnost memantinu nespočívá jen ve zpomalení progresu kognitivního deficitu, ale u pacientů bylo někdy zaznamenáno přímo i zlepšení kognitivních funkcí (Emre et al 2008; Peskind et al 2006).

Vzhledem k důležitosti NMDA receptorů pro učení a paměť se zlepšení těchto funkcí po podání NMDA antagonistů zdá překvapivé, nicméně výsledky preklinických i klinických studií ukazují, že tomu tak doopravdy je. Ačkoli bylo navrženo několik hypotéz vysvětlujících, jakými procesy by memantin mohl kognitivní schopnosti zlepšovat, skutečný mechanismus tohoto jevu zůstává nejasný. Někteří autoři se dokonce domnívají, že při léčbě memantinem ve skutečnosti nedochází k dostatečné blokádě NMDA receptorů a že za jeho efekt může být zodpovědné působení na jiných receptorech (Creeley et al 2006).

3.6.4 Vztah k psychotomimetickým účinkům

Jak již bylo řečeno, unkompetitivní NMDA antagonista memantin má při chronické perorální aplikaci na rozdíl od jiných NMDA antagonistů minimum nežádoucích účinků (Peskind et al 2006). Analýza výsledků studií zaměřených na účinky memantinu u pacientů s demencí navíc ukázala další příznivé účinky ve formě zmírnění změn chování, přítomných v některých případech onemocnění. Šlo mimo jiné o agresivitu a rozrušení, ale i psychotické projevy, především bludy (Gauthier et al 2008). Kromě toho existují i případy naznačující zmírnění některých příznaků schizofrenních pacientů po podávání memantinu či jeho derivátu amantadinu (Northoff et al 1997; Ponde & Novaes 2007), i když pouze ojediněle.

Oproti tomu po jednorázovém intraperitoneálním podání potkanům memantin překvapivě narušuje paměť, vyvolává hyperlokomoci a další typické příznaky poukazující naopak na psychotomimetické účinky, a to i v dávkách, které ještě nejsou neuroprotektivní. Autoři si absenci psychotomimetických symptomů u pacientů léčených memantinem vysvětlují dosažením nedostatečné blokády NMDA receptorů, a zpochybňují tím využitelnost neuroprotektivních účinků memantinu (Creeley et al 2006). Každopádně je nutné vzít v úvahu větší použitou dávku memantinu, odlišný způsob jeho aplikace a fyziologickou rozdílnost potkanů a lidí.

Psychotomimetický potenciál u této skupiny NMDA antagonistů však zjevně nepředstavuje překážku pro klinické využití memantinu v dávkách, které mají terapeutický význam. Přesto mechanismus jeho terapeutického působení zůstává nejasný (Gauthier et al 2008). Jeho vysvětlení by pomohlo objasnit, jak a zda by bylo možné využít přínosné vlastnosti unkompetitivních NMDA antagonistů i při léčbě dalších patologických stavů.

Závěr

Aplikace antagonistů NMDA receptorů laboratorním zvířatům i lidem nepochybně může způsobovat mnoho různých změn chování, z nichž ty nejvýznamnější shrnuji ve své práci.

NMDA receptory jsou nepostradatelné pro správné fungování mozku. Jejich vychýlení z rovnováhy se proto projeví i na úrovni organismu. Je zřejmé, že charakter a rozsah těchto účinků mnohdy velmi záleží na vazebném místě a způsobu blokády NMDA receptoru. Relativně malá odlišnost působení na molekulární úrovni vede někdy i k dramaticky rozdílným účinkům (zhoršení versus zlepšení kognice, psychotomimetické versus možné antipsychotické působení). Proto je detailní pochopení farmakologických vlastností dané látky a jejich vztahu k vlivům na chování nezbytné.

Přesné důvody protichůdného působení některých NMDA antagonistů však zůstávají neznámé a obecně znalost mechanismů behaviorálních účinků NMDA antagonistů není většinou dostačující. Tyto zásadní otázky si jistě zaslouží další výzkum. Jejich zodpovězení, přestože je nejspíš ještě daleko, by v problematice výzkumu funkcí mozku znamenalo pokrok kupředu.

Unikátním a často studovaným projevem po podání NMDA antagonistů je komplexní soubor příznaků napodobující psychózu, vznikající u lidí i zvířat. Je charakteristický hlavně pro antagonisty nekompetitivní. Aplikace těchto látek má rovněž negativní vliv na učení. Naopak v určitých případech blokády malého podílu receptorů jinými NMDA antagonisty kognitivní deficit ani psychotické projevy nevznikají, a jsou-li již přítomny, mohou se někdy dokonce z dosud neznámých důvodů i zmírňovat.

NMDA antagonisté ovlivňují také emocionalitu, a to hlavně potlačením úzkosti a deprese. Tento účinek není striktně vázán na určitý typ NMDA antagonistů, ale byl zaznamenán u zástupců různých jejich skupin.

Mé shrnutí behaviorálních účinků NMDA antagonistů si však nemůže zcela činit nároky na úplnost. Větší prostor pro hlubší zpracování dané problematiky se nabízí v diplomové práci. Podání NMDA antagonistů může mít navíc za následek i další, méně výrazné a méně známé odchylky. Účinky NMDA antagonistů navíc často závisí na mnoha okolnostech experimentu. Současné podání dvou různých NMDA antagonistů vede někdy k interakcím (Fraser et al 1996; Karcz-Kubicha et al 1999), jejichž analýza je nad rámec této práce.

Praktický význam jednotlivých vlivů antagonistů NMDA receptorů na chování je individuální. Některé účinky jsou užitečné a již našly své uplatnění při léčbě patologických stavů (např. zmírnění příznaků demence memantinem) nebo by jej mohly najít v budoucnosti (anxiolytické, antidepressivní, případně i antipsychotické působení). Jen další soustavné klinické studie ukážou, zda by bylo možné některý z posledních tří jmenovaných účinků ve větší míře využít.

Jiné efekty (především ty psychotomimetické) jsou z klinického pohledu nežádoucí a brání využití mnohých NMDA antagonistů. Protože antagonisté NMDA receptorů mají zároveň neuroprotektivní vlastnosti a představují tak naději pro léčbu v současnosti těžko léčitelných stavů, je snaha vyvíjet takové NMDA antagonisty, kteří by v terapeutických dávkách závažné behaviorální účinky postrádali. Dle současných poznatků by tuto podmínku mohli splňovat nejspíše zástupci antagonistů unkompetitivních, ale i antagonistů glycinového vazebného místa NMDA receptoru či NR2B selektivních antagonistů.

Sledování účinků antagonistů NMDA receptorů zároveň napomohlo k lepšímu porozumění funkcím těchto receptorů a podstatě chorob spojených s jejich dysfunkcí. Přes pokroky v této oblasti je nutný další výzkum, který by mohl představovat cestu k pochopení patofyziologií těchto chorob a tím snad i k vývoji účinných léků.

Přehled použité literatury

- Andine P, Widermark N, Axelsson R, Nyberg G, Olofsson U, Martensson E, Sandberg M. 1999. Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis. *J Pharmacol Exp Ther* 290:1393-408.
- Anis NA, Berry SC, Burton NR, Lodge D. 1983. The dissociative anaesthetics, ketamine and phencyclidine, selectively reduce excitation of central mammalian neurones by N-methyl-aspartate. *Br J Pharmacol* 79:565-75.
- Arundine M, Tymianski M. 2003. Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium* 34:325-37.
- Becker A, Peters B, Schroeder H, Mann T, Huether G, Grecksch G. 2003. Ketamine-induced changes in rat behaviour: A possible animal model of schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27:687-700.
- Behar TN, Scott CA, Greene CL, Wen X, Smith SV, Maric D, Liu QY, Colton CA, Barker JL. 1999. Glutamate acting at NMDA receptors stimulates embryonic cortical neuronal migration. *J Neurosci* 19:4449-61.
- Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. 2000. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry* 47:351-4.
- Bristow LJ, Flatman KL, Hutson PH, Kulagowski JJ, Leeson PD, Young L, Tricklebank MD. 1996. The atypical neuroleptic profile of the glycine/N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, L-701,324, in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 277:578-85.
- Bubenikova-Valesova V, Horacek J, Vrajova M, Hoschl C. 2008. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 32:1014-23.
- Creeley C, Wozniak DF, Labruyere J, Taylor GT, Olney JW. 2006. Low doses of memantine disrupt memory in adult rats. *J Neurosci* 26:3923-32.
- Curtis DR, Phillis JW, Watkins JC. 1960. The chemical excitation of spinal neurones by certain acidic amino acids. *J Physiol* 150:656-82.
- Danysz W, Parsons CG, Karcz-Kubicha M, Schwaier A, Popik P, Wedzony K, Lazarewicz J, Quack G. 1998. GlycineB antagonists as potential therapeutic agents. Previous hopes and present reality. *Amino Acids* 14:235-9.
- DiazGranados N, Ibrahim LA, Brutsche NE, Ameli R, Henter ID, Luckenbaugh DA, Machado-Vieira R, Zarate CA, Jr. 2010. Rapid resolution of suicidal ideation after a single infusion of an N-methyl-D-aspartate antagonist in patients with treatment-resistant major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 71:1605-11.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. 1999. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* 51:7-61.

- Ellison G. 1995. The N-methyl-D-aspartate antagonists phencyclidine, ketamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias. *Brain Res Brain Res Rev* 20:250-67.
- Emre M, Mecocci P, Stender K. 2008. Pooled analyses on cognitive effects of memantine in patients with moderate to severe Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 14:193-9.
- Engin E, Treit D, Dickson CT. 2009. Anxiolytic- and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models. *Neuroscience* 161:359-69.
- Erhardt S, Schwieler L, Nilsson L, Linderholm K, Engberg G. 2007. The kynurenic acid hypothesis of schizophrenia. *Physiol Behav* 92:203-9.
- Fraser CM, Cooke MJ, Fisher A, Thompson ID, Stone TW. 1996. Interactions between ifenprodil and dizocilpine on mouse behaviour in models of anxiety and working memory. *Eur Neuropsychopharmacol* 6:311-6.
- Gao Y, Payne RS, Schurr A, Hougland T, Lord J, Herman L, Lei Z, Banerjee P, El-Mallakh RS. 2010. Memantine reduces mania-like symptoms in animal models. *Psychiatry Res (v tisku)*, doi:10.1016/j.psychres.2010.12.030).
- Gauthier S, Loft H, Cummings J. 2008. Improvement in behavioural symptoms in patients with moderate to severe Alzheimer's disease by memantine: a pooled data analysis. *Int J Geriatr Psychiatry* 23:537-45.
- Grotta J, Clark W, Coull B, Pettigrew LC, Mackay B, Goldstein LB, Meissner I, Murphy D, LaRue L. 1995. Safety and tolerability of the glutamate antagonist CGS 19755 (Selfotel) in patients with acute ischemic stroke. Results of a phase IIa randomized trial. *Stroke* 26:602-5.
- Guscott MR, Clarke HF, Murray F, Grimwood S, Bristow LJ, Hutson PH. 2003. The effect of (+/-)-CP-101,606, an NMDA receptor NR2B subunit selective antagonist, in the Morris watermaze. *Eur J Pharmacol* 476:193-9.
- Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K. 2006. Behavioral effects of ketamine and toxic interactions with psychostimulants. *BMC Neurosci* 7:25.
- Hayashi T, Thomas GM, Huganir RL. 2009. Dual palmitoylation of NR2 subunits regulates NMDA receptor trafficking. *Neuron* 64:213-26.
- Hess L. 2006a. Mají disociativní anestetika neuroprotektivní, nebo neurotoxický účinek? *Remedia* 16:117-118.
- Hess L. 2006b. Psychedelické účinky ketaminu. *Remedia* 16:614-616.
- Himmelseher S, Pfenninger E, Georgieff M. 1996. The effects of ketamine-isomers on neuronal injury and regeneration in rat hippocampal neurons. *Anesth Analg* 83:505-12.
- Hynie S. 2001. Farmakologie v kostce. 2. vydání. TRITON. 63.

- Chen HS, Lipton SA. 2006. The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *J Neurochem* 97:1611-26.
- Chojnacka-Wojcik E, Klodzinska A, Pilc A. 2001. Glutamate receptor ligands as anxiolytics. *Curr Opin Investig Drugs* 2:1112-9.
- Kapur S, Seeman P. 2002. NMDA receptor antagonists ketamine and PCP have direct effects on the dopamine D(2) and serotonin 5-HT(2) receptors-implications for models of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7:837-44.
- Karcz-Kubicha M, Wedzony K, Zajaczkowski W, Danysz W. 1999. NMDA receptor antagonists acting at the glycineB site in rat models for antipsychotic-like activity. *J Neural Transm* 106:1189-204.
- Kemp JA, McKernan RM. 2002. NMDA receptor pathways as drug targets. *Nat Neurosci* 5,suppl.:1039-42.
- Kew JN, Kemp JA. 1998. An allosteric interaction between the NMDA receptor polyamine and ifenprodil sites in rat cultured cortical neurones. *J Physiol* 512:17-28.
- Kew JNC, Kemp JA. 2005. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology* 179:4-29.
- Kotlinska J, Liljequist S. 1998. A characterization of anxiolytic-like actions induced by the novel NMDA/glycine site antagonist, L-701,324. *Psychopharmacology (Berl)* 135:175-81.
- Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Jr., Charney DS. 1994. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51:199-214.
- Lahti AC, Koffel B, LaPorte D, Tamminga CA. 1995. Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 13:9-19.
- Liu Y, Zhang J. 2000. Recent development in NMDA receptors. *Chin Med J (Engl)* 113:948-56.
- Lynch MA. 2004. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 84:87-136.
- Malenka RC, Bear MF. 2004. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.
- Malhotra AK, Pinals DA, Weingartner H, Sirocco K, Missar CD, Pickar D, Breier A. 1996. NMDA receptor function and human cognition: the effects of ketamine in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 14:301-7.
- Minkeviciene R, Banerjee P, Tanila H. 2008. Cognition-enhancing and anxiolytic effects of memantine. *Neuropharmacology* 54:1079-85.

- Moghaddam B, Jackson ME. 2003. Glutamatergic animal models of schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 1003:131-7.
- Morris RG. 1989. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *J Neurosci* 9:3040-57.
- Muir KW, Lees KR. 1995. Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs. *Stroke* 26:503-13.
- Muller T, Grosche J, Ohlemeyer C, Kettenmann H. 1993. NMDA-activated currents in Bergmann glial cells. *Neuroreport* 4:671-4.
- Nascimento Hackl LP, Carobrez AP. 2007. Distinct ventral and dorsal hippocampus AP5 anxiolytic effects revealed in the elevated plus-maze task in rats. *Neurobiol Learn Mem* 88:177-85.
- Nemeth H, Varga H, Farkas T, Kis Z, Vecsei L, Horvath S, Boda K, Wolff JR, Toldi J. 2002. Long-term effects of neonatal MK-801 treatment on spatial learning and cortical plasticity in adult rats. *Psychopharmacology (Berl)* 160:1-8.
- Nikam SS, Meltzer LT. 2002. NR2B selective NMDA receptor antagonists. *Curr Pharm Des* 8:845-55.
- Northoff G, Eckert J, Fritze J. 1997. Glutamatergic dysfunction in catatonia? Successful treatment of three acute akinetic catatonic patients with the NMDA antagonist amantadine. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 62:404-6.
- Olney JW. 2003. Excitotoxicity, apoptosis and neuropsychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol* 3:101-9.
- Olney JW, Labruyere J, Price MT. 1989. Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. *Science* 244:1360-2.
- Olney JW, Labruyere J, Wang G, Wozniak DF, Price MT, Sesma MA. 1991. NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention. *Science* 254:1515-8.
- Padovan CM, Guimaraes FS. 2004. Antidepressant-like effects of NMDA-receptor antagonist injected into the dorsal hippocampus of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 77:15-9.
- Parsons CG. 2001. NMDA receptors as targets for drug action in neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 429:71-8.
- Patat A, Molinier P, Hergueta T, Brohier S, Zieleniuk I, Danjou P, Warot D, Puech A. 1994. Lack of amnesic, psychotomimetic or impairing effect on psychomotor performance of eliprodil, a new NMDA antagonist. *Int Clin Psychopharmacol* 9:155-62.
- Peskind ER, Potkin SG, Pomara N, Ott BR, Graham SM, Olin JT, McDonald S. 2006. Memantine treatment in mild to moderate Alzheimer disease: a 24-week randomized, controlled trial. *Am J Geriatr Psychiatry* 14:704-15.

- Petralia RS, Yokotani N, Wenthold RJ. 1994. Light and electron microscope distribution of the NMDA receptor subunit NMDAR1 in the rat nervous system using a selective anti-peptide antibody. *J Neurosci* 14:667-96.
- Ponde MP, Novaes CM. 2007. Aripiprazole worsening positive symptoms and memantine reducing negative symptoms in a patient with paranoid schizophrenia. *Rev Bras Psiquiatr* 29:92.
- Preskorn SH, Baker B, Kolluri S, Menniti FS, Krams M, Landen JW. 2008. An innovative design to establish proof of concept of the antidepressant effects of the NR2B subunit selective N-methyl-D-aspartate antagonist, CP-101,606, in patients with treatment-refractory major depressive disorder. *J Clin Psychopharmacol* 28:631-7.
- Price RB, Nock MK, Charney DS, Mathew SJ. 2009. Effects of intravenous ketamine on explicit and implicit measures of suicidality in treatment-resistant depression. *Biol Psychiatry* 66:522-6.
- Przegalinski E, Tatarczynska E, Deren-Wesolek A, Chojnacka-Wojcik E. 1997. Antidepressant-like effects of a partial agonist at strychnine-insensitive glycine receptors and a competitive NMDA receptor antagonist. *Neuropharmacology* 36:31-7.
- Reus GZ, Stringari RB, Kirsch TR, Fries GR, Kapczinski F, Roesler R, Quevedo J. 2010. Neurochemical and behavioural effects of acute and chronic memantine administration in rats: Further support for NMDA as a new pharmacological target for the treatment of depression? *Brain Res Bull* 81:585-9.
- Silvestre JS, Nadal R, Pallares M, Ferre N. 1997. Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. *Depress Anxiety* 5:29-33.
- Smith DH, Okiyama K, Thomas MJ, McIntosh TK. 1993. Effects of the excitatory amino acid receptor antagonists kynurenate and indole-2-carboxylic acid on behavioral and neurochemical outcome following experimental brain injury. *J Neurosci* 13:5383-92.
- Uehara T, Sumiyoshi T, Seo T, Itoh H, Matsuoka T, Suzuki M, Kurachi M. 2009. Long-term effects of neonatal MK-801 treatment on prepulse inhibition in young adult rats. *Psychopharmacology (Berl)* 206:623-30.
- Uehara T, Sumiyoshi T, Seo T, Matsuoka T, Itoh H, Suzuki M, Kurachi M. 2010. Neonatal exposure to MK-801, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, enhances methamphetamine-induced locomotion and disrupts sensorimotor gating in pre- and postpubertal rats. *Brain Res* 1352:223-30.
- Vales K, Bubenikova-Valesova V, Klement D, Stuchlik A. 2006. Analysis of sensitivity to MK-801 treatment in a novel active allothetic place avoidance task and in the working memory version of the Morris water maze reveals differences between Long-Evans and Wistar rats. *Neurosci Res* 55:383-8.

- Vales K, Rambousek L, Stuchlik A, Chodounska H, Vyklicky L. 2010. Srovnání vlivu systémové aplikace non-kompetitivních a use-dependentních NMDA antagonistů na lokomoční aktivitu a kognitivní funkce u laboratorního potkana. *Psychiatrie* 14,suppl.2:26-30.
- van der Staay FJ, Rutten K, Erb C, Blokland A. 2011. Effects of the cognition impairer MK-801 on learning and memory in mice and rats. *Behav Brain Res* 220:215-229.
- Wenke M, Mraz M, Hynie S. 1983. Farmakologie pro lékaře. 1. vydání. Avicenum. 72-75.
- Whitlock JR, Heynen AJ, Shuler MG, Bear MF. 2006. Learning induces long-term potentiation in the hippocampus. *Science* 313:1093-7.
- Wieronska JM, Szewczyk B, Palucha A, Branski P, Smialowska M. 2003. Involvement of CRF but not NPY in the anxiety regulation via NMDA receptors. *Pol J Pharmacol* 55:1119-24.
- Wilson C, Kercher M, Quinn B, Murphy A, Fiegel C, McLaurin A. 2007. Effects of age and sex on ketamine-induced hyperactivity in rats. *Physiol Behav* 91:202-7.
- Wollmuth LP, Sobolevsky AI. 2004. Structure and gating of the glutamate receptor ion channel. *Trends Neurosci* 27:321-8.
- Zarate CA, Jr., Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. 2006. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* 63:856-64.