

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



Anna Revayová

Antidepressivní účinek ketaminu

Antidepressant effect of ketamine

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Karel Valeš, Ph.D.

Praha, 2013

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, 18.8.2013

Anna Revayová

Poděkování:

Ráda bych především poděkovala svému školiteli RNDr. Karlu Valešovi, Ph.D. za trpělivost a ochotu a cenné rady při psaní této práce. Vyjma toho bych také ráda poděkovala mým přátelům za podporu.

Abstrakt

Ketamin je používán jako anestetikum především ve veterinární medicíně a pediatrii. Před třinácti lety padl zájem na ketamin jako antidepresivum. Antidepresivní účinek ketaminu má rychlý nástup a působí i u pacientů, kteří trpí depresí odolnou léčbě. Nevýhodou ketaminu jsou ovšem jeho psychotomimetické účinky.

Ketamin je antagonistou NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptoru, přičemž NMDA receptor má důležitou úlohu v mozkové aktivitě. Skrze antagonismus tohoto receptoru může být ovlivněn nespočet procesů, jako jsou hladiny glutamátu, excitotoxicita, ale i zastoupení jiných receptorů. Vyjma toho ketamin pravděpodobně také působí na D2 receptory, ač zde je jeho úloha poměrně nejistá. Ketamin má vliv i na neuroplasticitu a jeho efekt lze modulovat opakovanou aplikací, spoluaplikací s jinými látkami. V neposlední řadě v účinku ketaminu hraje roli i pohlaví.

Cílem této práce je shrnout možné mechanismy účinku ketaminu, jeho vliv na synaptoplasticitu i možnosti modulace účinku ketaminu a další faktory, které se na jeho účinku podílejí. V této práci jsou zmíněny nejdůležitější studie zabývající se problematikou ketaminu jako antidepresiva s možným nastíněním výzkumu do budoucna.

Klíčová slova: deprese, ketamin, antidepresivum, NMDA antagonismus, glutamátergní transmise, neuroplasticita

Abstract

Ketamine is used as an anaesthetic mainly in veterinary medicine and paediatrics. Thirteen years ago, interest in ketamine as an antidepressant emerged. Ketamine as an antidepressant works rapidly and is also effective in the case of patients suffering from treatment resistant depression. The main disadvantage of ketamine as an antidepressant is its psychotomimetic effect.

Ketamine is an antagonist of the NMDA receptor, which has an important influence in brain activity. Through antagonism of this receptor, a large amount of processes can be affected, for example levels of glutamate, excitotoxicity, or density of other receptors. In addition, ketamine probably also affects the D2 receptors, but its role in this is uncertain. Ketamine influences synaptic plasticity and its effect can be modulated by repeated application, co-application with other drugs and other methods. Also gender seems to play role in the effect of ketamine.

The aim of this work is to summarise possible mechanisms of effect of ketamine, its effect on synaptic plasticity and also possibilities of modulation of its effect. This thesis mentions the most important studies concerning ketamine as an antidepressant and possible future directions of research.

Keywords: major depressive disorder, ketamine, antidepressant, NMDA antagonism, glutamatergic transmission, synaptic plasticity

Seznam zkratek

4E-BP	<i>eIF4E binding protein</i>
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionát
BDNF	<i>brain-derived neurotrophic factor</i>
DA	dopamin
eEF2	<i>eukaryotic elongation factor</i>
eEF2K	<i>eukaryotic elongation factor 2 kinase</i>
ERK	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
FST	<i>forced swimming test</i>
GSK-3	<i>glycogen synthase kinase 3</i>
LH	<i>learned helplessness</i>
LTP	long term potenciace
MAOI	<i>monoamine oxidase inhibitor</i>
mTOR	<i>mammalian target of rapamycin</i>
NBQX	2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxalin-2,3-dion
NMDA	N-methyl-D-aspartát
p70S6K	p70 S6 kináza
PFC	prefrontální kortex
PHG	parahippokampální gyri
ROI	<i>region of interest</i>
sgACC	subgenuální oblast anteriorního cingulárního kortexu
SNRI	<i>selective serotonin reuptake inhibitor</i>
SPT	<i>sucrose preference test</i>
SSRI	<i>selective serotonin reuptake inhibitor</i>
TCA	tricyklické antidepresivum
TST	<i>tail suspension test</i>

Obsah

Úvod	8
1 Deprese.....	9
1.1 Charakteristika deprese	9
1.2 Současná farmakoterapie deprese.....	9
1.3 Diagnostické metody deprese	10
1.3.1 Metody používané v humánní medicíně.....	10
1.3.2 Metody používané v experimentálním výzkumu.....	11
2 Ketamin.....	12
2.1 Historické využití ketaminu.....	12
2.2 Ketamin jako antidepresivum	14
2.2.1 Výhody ketaminu.....	14
2.2.2 Nevýhody ketaminu.....	14
3 Mechanismus účinku ketaminu.....	15
3.1 NMDA antagonismus	15
3.2 Ovlivnění glutamátergní neurotransmise.....	19
3.3 AMPA.....	20
3.4 D2 receptory.....	21
4 Neuroplastické změny indukované ketaminem	22
4.1 mTOR.....	22
4.2 eEF2K – eEF2.....	24
4.3 BDNF	25
4.4 GSK-3	26
4.5 Denzita trnů pyramidových neuronů.....	26
4.6 Formování synaptických váček	27
5 Modulace/prodloužení účinku ketaminu a další.....	27
5.1 Současné podání s jinými léčivy.....	27
5.2 Opakovaná aplikace.....	28
5.3 Intersexuální rozdíly účinku ketaminu	29
5.4 Anatomická specifita působení ketaminu	29
Závěr.....	31
Seznam použité literatury	33

Úvod

Deprese je dlouhodobý stav charakterizovaný především neschopností pociťovat kladné pocity (anhedonie), poruchami spánkového i potravního režimu a dalších somatických funkcí s velkým dopadem na život pacienta i společnosti (Belmaker & Agam, 2008). V léčbě deprese jsou v současnosti používány především inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a norepinefrinu, jejichž hlavní nevýhodou je především pomalý nástup účinku v řádu týdnů, což je kritická perioda pro pacienty podstupující léčbu z důvodu sebevražedných sklónů.

Ketamin patří do rodiny takzvaných disociativních anestetik. Ketamin má dobré anestetické i analgetické vlastnosti, jeho nevýhodou je ovšem vyvolávání jiných stavů vědomí a halucinací, z těchto důvodů je používán především ve veterinární medicíně a u dětí. Vyjma toho se ketamin používá k modelování příznaků schizofrenie a je také konzumován rekreačně jako psychotropní droga.

Potenciál ketaminu jakožto antidepresiva byl ukázán ve studii Berman et al. (2000), kdy u účastníků této studie nastal antidepresivní účinek v rozmezí hodin a tento pak gradoval následujících 72 hodin. Další studie Zarate et al. (2006) pak ukázala antidepresivní účinek i u farmakoresistentních pacientů. Nevýhodou ketaminu je ovšem spíše krátkodobé působení a také jeho psychotropní účinky. Vzhledem ke skutečnosti, že ketamin je antagonist NMDA receptoru, jež hraje důležitou úlohu v glutamatergní transmisi v mozku, zájem je zaměřen na vývoj antidepresiv s novým mechanismem účinku.

V této práci, po stručném seznámení s depresí a v současnosti používanými antidepresivy, bude pojednáno o metodách používaných v humánní medicíně a experimentálním výzkumu s důrazem kladeným zvláště na ty metody používané ve výzkumu experimentálním. Hlavní pozornost bude v této práci věnována mechanismu účinku ketaminu a neuroplastickým změnám, jež jsou indukovány ketaminem, se zaměřením na nejdůležitější signální dráhy. Stručně potom budou zmíněny možnosti prodloužení účinku ketaminu, či vlivu pohlaví a anatomické specifity ketaminu. Efekt ketaminu na anxieta ani jeho úloha ve výzkumu schizofrenie nejsou předmětem této práce.

1 Deprese

1.1 Charakteristika deprese

Deprese je duševní choroba, dlouhodobý stav založený na komplexních biologických procesech. Není vhodné zaměňovat depresi s krátkodobou změnou nálady, která se může objevit u každého jednotlivce (Belmaker & Agam, 2008).

Deprese je diagnostikována na základě následujících symptomů: neschopnost pociťovat kladné pocity (anhedonie) a snadná iritabilita, poruchy spánkového a potravního režimu a vegetativních funkcí jako je například trávení, ztráta sexuálního apetitu, psychomotorická retardace a sebevražedné sklony, přičemž tyto syndromy přetrvávají déle než dva týdny a silně zasahují do každodenního života pacienta (Belmaker & Agam, 2008).

Příčina deprese, ani mechanismus jejího vzniku není jistý, přičítá se vlna vlivům genetickým (Kendler et al., 1999; Kendler et al., 2006; Sullivan et al., 2000) endokrinním i výživovým (Lang & Borgwardt, 2013). U pacientů trpících depresí jsou pak pozorovány různé fyziologické, histologické i morfologické změny v mozku, především pak v hippocampu, který bývá zmenšený (Sheline et al., 1996), prefrontálním kortexu se ztenčenou kortikální vrstvou i sníženou denzitou neuronů i glií (Rajkowska et al., 1999) a v neposlední řadě v amygdale, centru emocí (Hamilton et al., 2008).

Deprese je ničující nemoc s poměrně velkou prevalencí (Kessler et al., 2003), se zátěží sociálně-ekonomickou (Olesen et al., 2012) pro pacienty i jejich okolí, přičemž nejenom z těchto důvodů si zaslouží zájem medicíny a výzkumu.

1.2 Současná farmakoterapie deprese

Současná antidepresiva jsou založena na hypotéze deficiencie monoaminů, jako je serotonin a norepinefrin, v mozku. Současná i v minulosti používaná antidepresiva jsou tedy založena na principu zabránění zpětného vychytávání těchto neurotransmiterů, popřípadě inhibicí jejich metabolismu (*monoamine oxidase inhibitors*, MAOI), a tedy zvyšování jejich hladiny v synapsích a stimulace postsynaptických neuronů (Belmaker & Agam, 2008).

Jednou z prvních tříd léků používaných na léčbu deprese byla tricyklická antidepresiva (TCA), která ovšem měla vážnější vedlejší účinky, vyjma toho

docházelo často k předávkování těmito léky (Artigas, 2013; Preskorn, 2012). Vzhledem k těmto efektům byla vyvinuta nová řada léků na stejném principu, s menším výskytem nežádoucích účinků, inhibitory vychytávání serotoninu a norepinefrinu (*selective serotonin reuptake inhibitors*, SSRI a *serotoninu and norepinefrine reuptake inhibitors*, SNRI), které jsou hojně používány dodnes (Artigas, 2013).

Nevýhodou SSRI a SNRI antidepresiv je především pomalý nástup účinku, což je kritické především kvůli sebevražedným sklónům pacientů trpících depresí. Vyjma toho přibližně u 40% pacientů tyto antidepresiva nevedou k remisi onemocnění, případně pokud ano, po skončení léčby dochází k relapsu (Artigas, 2013; Trivedi et al., 2006).

Z těchto a jiných důvodů si léčba deprese žádá nových antidepresiv s jiným mechanismem účinku a minimem účinků nežádoucích.

1.3 Diagnostické metody deprese

V této kapitole bych ráda stručně zmínila metodiku, jakou je měřena a testována míra deprese, a to jak u lidí, tak u animálních modelů deprese, neboť testy a metodiky jsou často používány ve výzkumu deprese a antidepresiv, z toho důvodu se také budou vyskytovat v mé práci.

1.3.1 Metody používané v humánní medicíně

Nejznámější a nejvíce používanou je Hamiltonova škála (*Hamilton rating scale for depression*). Jedná se o dotazník s otázkami zaměřenými na depresivní náladu, pocity viny, sebevražedné sklony, nespavost, psychomotorickou agitaci či retardaci, ztrátu váhy a další tělesné projevy, pomocí nichž se určuje závažnost deprese u pacienta (Hamilton, 1960).

Další takovou škálou je pak Montgomery-Åsberg škála k posouzení deprese (*Montgomery- Åsberg Depression Rating Scale*), přičemž v porovnání se škálou Hamiltonovou je tato více zaměřená na citlivost ke změně v míře deprese, tedy je vhodnější ke stanovení progresu při léčbě antidepresivy (Montgomery & Asberg, 1979).

Dále pak existuje nespočet dalších takových dotazníků, jako například *Beck Depression Inventory*, *Zung Self-Rating Depression scale* a další (Beck, 1978; Zung et al., 1965).

1.3.2 Metody používané v experimentálním výzkumu

Jedním z nejčastěji používaným testem působení antidepresivních farmak je takzvaný *forced swimming test* (FST), kdy je zvíře umístěno do cylindrické nádoby s vodou bez možnosti úniku. Míra nehybnosti tohoto zvířete v nádobě je pak interpretována jako míra jeho deprese. Změna trvání imobility zvířete v nádobě je pak zaznamenávána v reakci na podání antidepresiva. FST, jež je často používán v experimentálním výzkumu, má dobrou prediktivní validitu u TSA, MAOI i somatické léčby, u antidepresiv s jiným mechanismem účinku má validitu nižší, přičemž původně tento test byl falešně negativní u SSRI antidepresiv, a vyjma toho vykazoval i falešnou pozitivitu u psychotik, jež sice snižují mobilitu zvířete, ovšem nemají antidepresivní účinek. Proto existují revize a modifikace této metody (Cryan et al., 2005).

Podobného principu využívá i *tail suspension test* (TST), kdy je zvíře zavěšeno pomocí ocasu a opět je měřena míra jeho imobility (O'Neil & Moore, 2003)

Dalším často používaným testem je takzvaný *learned helplessness* (LH). V tomto případě je zvíře vystaveno opakovaným nevyhnutelným a nekontrolovatelným šokům, což u něj vede k vyvinutí chování podobnému depresi. Míra bezmoci je pak posuzována v testu aktivního útěku, tedy přesněji řečeno v jeho latenci v tomto testu, kdy má zvíře například stisknout páčku, aby mohlo utéci (Drugan et al., 1997).

Další metodou ve výzkumu deprese je *chronic mild stress* (CMS). V tomto případě je zvíře vystaveno mírným nekontrolovaným stresorům v delším časovém měřítku, jako je například mírná změna teploty, periody potravní deprivace a další, po dobu alespoň dvou týdnů. Výsledkem jsou dlouhotrvající neurochemické změny s příznaky podobnými anhedonii, které mohou být zvráceny chronickou léčbou antidepresivy. Tato metoda oplývá dobrou předpovědní a konstrukční hodnotou, dobře také odráží příznaky deprese, ovšem v praxi je pracovně i časově náročná a špatně reprodukovatelná (Willner et al., 1992).

Bilaterální olfaktorická bulbektomie u potkanů vede k rozrušení neurochemických, behaviorálních i neuroendokrinních vzorců a projevuje se podobně jako u lidí deprese, neboť olfaktorický systém u potkanů formuje tu oblast limbického systému, který je propojen funkčně s amygdalou a hippokampem. Chronické, ovšem ne akutní, podání antidepresiv upravuje behaviorální projevy spojené s olfaktorickou bulbektomií.

Tento model také slouží ke zkoumání nejen vlivu antidepresiv, ale také příčin deprese (Song & Leonard, 2005).

Další metodou v experimentálním výzkumu je aplikace reserpinu. Reserpin je lék proti hypertenzi, který vede k psychomotorické retardaci a snížení tělesné teploty u laboratorních zvířat a k neselektivní likvidaci synaptických zásob noradrenalinu, dopaminu i serotoninu. Při léčbě reserpinem v humánní medicíně je také často pacienty pociťována dysforie. Z toho důvodu se předpokládá, že projevy u zvířat jsou obdobou těchto účinků, ač není jednoznačně jisté, zda se jedná pouze o dysforii, nebo pravou depresi. Výzkum reserpinem vyvolané deprese má ovšem své limity, například v neznalosti mechanismu jeho zhoršení nálady u lidí (O'Neil & Moore, 2003).

Kromě výše jmenovaných existují další metody. Příkladem mohou být *novelty-induced hypophagia* (Dulawa & Hen, 2005), založená na skutečnosti, že zvíře v případě vystavení novému podnětu snižuje příjem potravy, přičemž tato metoda je spíše používaná pro měření anxiolytických účinků antidepresiv. Ke stanovení anxiety u zvířat je pak také velmi často používán *open-field test* (Holmes, 2001). *Sucrose preference test* (SPT) oproti tomu slouží k posouzení anhedonie a vychází z upřednostnění sladké potravy hlodavci (Nielsen et al., 2000). Modelem stresu v časném vývoji je pak oddělení mláďete od matky v prvních dvou týdnech po narození (*maternal separation*), které vede k anxietě a depresi v pozdějším věku (O'Neil & Moore, 2003).

2 Ketamin

Ketamin (2-(2-chlorophenyl)-2-(methylamino)-cyclohexanon, obr. 1) je bílá krystalická látka, která obsahuje chirální uhlík, existují tedy dva optické izomery této sloučeniny. Využívána je racemická směs ketaminu, tedy směs obou izomerů, přičemž S-enantiomer je více účinný než R-enantiomer (Muir & Lees, 1995).

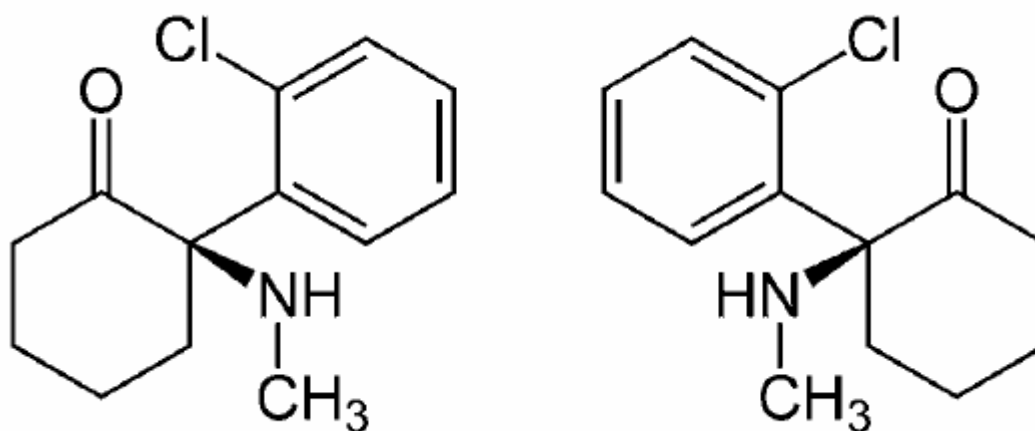
2.1 Historické využití ketaminu

V lékařství je ketamin používán k anestezii, popřípadě analgezií, především ve veterinární medicíně a pediatrii. K dostání je izotonický roztok k injekční aplikaci pod názvy Ketalar®, Ketanest®, Vetalar® atd. (Green et al., 1998; Wolff & Winstock,

2006). Podání je možné ale i orálně, intranazálně, subkutánně či intramuskulárně (Wolff & Winstock, 2006). Ketamin je řazen mezi takzvaná disociativní anestetika, to jest anestetika, která disociují mozkovou kůru od podkoří, kdy v případě takové anestezie je výhodou dobré zachování dýchacích reflexů. Vyjma toho ketamin zvyšuje krevní tlak a srdeční frekvenci, proto je vhodný jako anestetikum u pacientů v šoku (Muir & Lees, 1995). Nevýhodou anestezie ketaminem, především u dospělých pacientů, je výskyt halucinací, nočních můr a pozměněných stavů (Muir & Lees, 1995), tyto se však nevyskytují u dětí, což je přisuzováno nezformovaným okruhům s N-methyl-D-aspartátovým (NMDA) receptorem (Olney & Farber 1995). Nežádoucí psychotomimetické efekty ketaminu mohou být odstraněny premedikací benzodiazepiny (Muir & Lees, 1995).

Jak již je naznačeno výše, ketamin způsobuje halucinace a pozměněné stavy. Z toho důvodu je také využíván k modelování psychóz (Wolff & Winstock, 2006). Příkladem mohou být účinky anxiogenní, jako bylo ukázáno ve studii z roku 1997 (Silvestre et al., 1997), ale i vyvolání příznaků schizofrenie, disociativních stavů a pozměněného vědomí, jako bylo ukázáno ve studii se zdravými dobrovolníky s dávkou ketaminu 0,1-0,5 mg/kg (Krystal et al., 1994).

V neposlední řadě je pak ketamin používán jako rekreační droga, přičemž počátky zneužívání ketaminu jsou datovány již do roku 1967. Ketamin je konzumován intranazálně, orálně, ale i inhalován. Kýženým efektem ketaminu jako drogy jsou jeho psychedelické efekty, změny vědomí, pocity oddělení mysli od těla, i sluchové a zrakové halucinace. Případy předávkování ketaminem ovšem nejsou časté (Wolff & Winstock, 2006).



Obr. 1 – S (+) ketamin a R (-) ketamin (převzato z Fuj & Buben 2010)

2.2 Ketamin jako antidepresivum

Ketamin má antidepresivní efekt v případě podání subanestetické dávky, jak ukázaly četné studie, stěžejní byly Berman et al. (2000) a Zarate et al. (2006), o nichž se krátce zmíním v následující kapitole, v níž se budu věnovat výhodám ketaminu jako antidepresiva. Dále se pak také zmíním o nevýhodách ketaminu.

2.2.1 Výhody ketaminu

Četné studie ukázaly rychlý nástup účinku ketaminu. Studie Berman et al. (2000) ukázala, že dávka 0,5 mg/kg má u lidí robustní antidepresivní účinek s rychlým nástupem, gradující během 72 hodin. Další studie u lidí trpících léčbě resistantní depresí ukázala nástup antidepresivního účinku již během dvou hodin, kdy 71% pacientů na dávku ketaminu reagovala úlevou a efekt ketaminu přetrvával u některých případů i týden po aplikaci (Zarate et al., 2006). Antidepresivní efekt je k vidění i u jiných NMDA antagonistů (Kaster et al., 2012), ovšem ten u ketaminu trvá déle. Jedním z úskalí placebo studií s ketaminem jsou efekty na změny vnímání, jež mohou zredukovat úlohu placebo ve studii, tento efekt by se však mohl v budoucích studiích minimalizovat podáním látky s podobným psychotomimetickým efektem jako ketamin (Zarate et al., 2006).

Antidepresivní účinek ketaminu se také dostavil u pacientů nereagujících na elektrokonvulzivní terapii (Ibrahim et al., 2011). Tyto, a četné další studie, tedy nastiňují dvě hlavní výhody ketaminu jako antidepresiva, a to je jeho rychlý nástup účinku a efektivita i u velkého procenta pacientů, kteří na standardní léčbu nereagují.

2.2.2 Nevýhody ketaminu

Efekt ketaminu se liší, přičemž tím může být antidepresivní, psychotomimetický, ale i analgetický až anestetický efekt (Fujáková et al., 2010). Právě psychotomimetický účinek ketaminu může být jednou z nevýhod. Studie Zarate et al. (2006) publikovala jako jeden z vedlejších efektů ketaminu právě pozměněné vnímání. Dále může být shledáno nevýhodné, jak ukázala i studie Bechtholt-Gompf et al. (2011) u myší, krátké trvání antidepresivního účinku, který již po týdnu nebyl patrný. Ovšem co se týče doby antidepresivního účinku, data se značně liší mezi živočišnými druhy. Také použitý TST a zvláště FST jsou v této studii kritizovány kvůli

nižší prediktivní validitě u glutamatergických antidepresiv, jak je probráno výše (Kap. 1.3.2. Metody v experimentálním výzkumu).

Další nevýhodou může být problematika ketaminu jakožto orálně podávaného antidepresiva. V případě orálního podání ketaminu je jeho efekt nižší a může vést k nežádoucím příznakům, jako je zvracení a halucinace (Wolff & Winstock, 2006). Možnost orálně podávaných antidepresiv je lepší variantou v běžné psychiatrické praxi.

Dále bych ráda ještě jednou zdůraznila to, že je ketamin již od 70. let konzumován jako rekreační droga, což by také způsobilo potíže při zavádění ketaminu jako antidepresiva z důvodu možného zneužívání.

3 Mechanismus účinku ketaminu

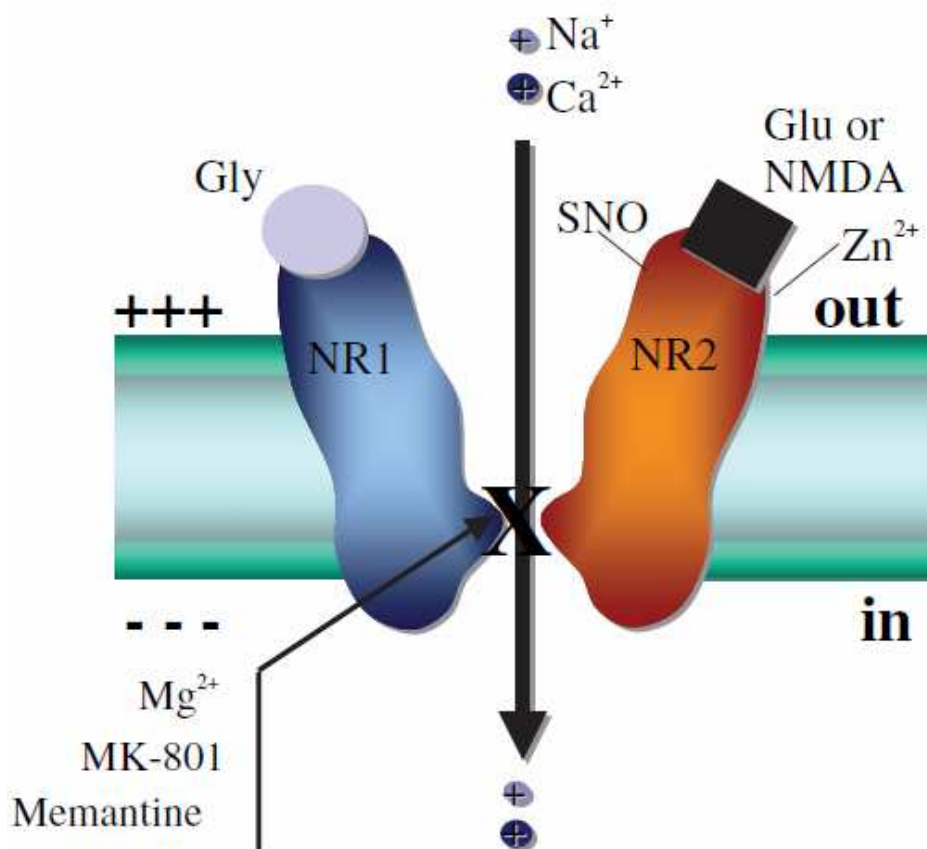
3.1 NMDA antagonismus

Úlohu NMDA receptoru a jeho agonistů a antagonistů v depresi ukazuje studie zaměřená především na antidepresivní efekt adenosinu, hojně se vyskytujícímu neuromodulátoru v centrální nervové soustavě. Adenosin se váže na A_1 , A_{2A} , A_{2B} a A_3 receptory, což jsou receptory spojené s G-proteiny, kontrolující hladinu vápníku a cyklického adenosin monofosfátu v buňce. Zvláště pak A_1 a A_{2A} receptory mohou kontrolovat mimo jiné výlev serotoninu, kortikotropinu a glutamátu. Ve studii Kaster et al. (2012) byl studován vliv na imobilitu ve FST u adenosinu a různých dalších látek, jako je N^6 -cyclohexyladenosin, imipramin, NMDA, D-serin a chlorid zinku. V případě podání D-serinu nebo NMDA byl zablokován antidepresivní efekt adenosinu i MK-801. Antidepresivní efekt se dostavil při podání adenosinu, ketaminu, MK-801 i chloridu zinku. Při současném podání například adenosinu a ketaminu byl antidepresivní účinek zesílen. NMDA a D-serin jsou agonisty NMDA receptoru, tedy ho aktivují, zinek se váže na inhibiční místo NMDA receptoru, tedy ho inhibuje a ketamin a MK-801 jsou nekompetitivními antagonisty NMDA receptoru. Studie tedy ukazuje, že efekt adenosinu je závislý na inhibici NMDA receptoru zprostředkovaného aktivací A_1 receptoru. Dalším zajímavým poznatkem této práce je skutečnost, že podání adenosinu a ketaminu má synergistický účinek. Tomuto problému se budu více věnovat v pozdější kapitole.

NMDA receptor (obr. 2) je tetramerní iontový kanál sestávající z podjednotek NR1, NR2 a občas NR3A nebo B (Chen & Lipton, 2006). Vyjma toho je známo 8 různých funkčních sestřihů (a jeden nefunkční) NR1 podjednotky. NR2 podjednotky vykazují mezi sebou 38-53% homologii a přibližně 27% homologii s NR1 podjednotkou. Podobně NR3 podjednotky sdílí mezi sebou přibližně 50% sekvence, a s NR1 a NR2 podjednotkami sdílí asi 27% (Kew & Kemp, 2005). NMDA receptory se kvalitativně liší dle zastoupení typů podjednotek, přičemž kvalitativně odlišné NMDA receptory jsou exprimovány jak pozičně v mozku, tak i během vývoje (Chen & Lipton, 2006; Kew & Kemp, 2005).

Studie Boyce-Rustay & Holmes (2006) studovala vliv genetického knock-outu NR2A podjednotky NMDA receptoru u myši na depresi a anxieta. Knockoutované myši vykazovaly nižší mobilitu v TST i FST a zrovna tak nižší anxieta v testech na to zaměřených (*elevated plus maze test, novel open field, light-dark exploration test*). Aktivita mimo testovací prostředí byla stejná u myši knockoutovaných a *wild type*. Z toho se zdá být patrné, že i podjednotkové složení NMDA receptoru hraje důležitou roli v ovlivnění chování a autoři navrhují cílení antidepresiv právě proti NR2A podjednotce. Zinek, jež prokázal antidepresivní efekt ve studii Kaster et al. (2012) zmíněné výše, také inhibuje právě NR2A podjednotku. Ovšem vzhledem k důležitosti NMDA receptorů i k zastoupení NR2A podjednotky v dospělém mozku je třeba více studií a zvýšené opatrnosti při ovlivnění aktivity NMDA receptoru i jednotlivých podjednotek (Boyce-Rustay & Holmes, 2006).

NMDA receptor vyžaduje současnou vazbu dvou ligandů – glutamátu a glycinu. Dvě molekuly glutamátu se vážou na nezávislá vazebná místa na NR2 podjednotce, zatímco dvě molekuly glycinu se vážou na dvě nezávislá místa na NR1 podjednotce, tedy celkem čtyři molekuly se vážou na tetramer sestávající z 2 NR1 a 2 NR2 podjednotek, přičemž NR3 podjednotky mohou příležitostně zastupovat jednu z NR2 podjednotek (Chen & Lipton, 2006). Vyjma toho se na NMDA receptor váže spousta dalších endogenních i exogenních ligandů, jako například Zn^{2+} , H^+ a polyaminy (Liu & Zhang, 2000) a jeho aktivita je modulována i fosforylací (Liu & Zhang, 2000).



Obr. 2 – Model NMDA receptoru zobrazující důležitá vazebná a regulační místa. Glu or NMDA je vazebné místo pro glutamát nebo N-methyl-D-aspartát; Gly je vazebné místo pro Glycin; Zn²⁺ zobrazuje vazebné místo pro zinek. NR1 a NR2 je označení podjednotek NMDA receptoru; SNO je označení cystein sulfhydrylové skupiny reagující s oxidem dusnatým; X je pak označení vazebného místa v oblasti iontového kanálu pro Mg²⁺, MK-801 a memantin (převzato z Chen & Lipton, 2006)

Další specifickou vlastností NMDA receptoru je jeho pomalá kinetika a aktivace závislá vyjma vazby ligandu i na membránovém potenciálu. Při klidovém potenciálu je kanál NMDA receptoru blokován Mg²⁺ ionty, které se uvolní při změně potenciálu, iniciované například α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionátovými (AMPA) receptory, které se často nachází na membráně společně s NMDA receptory (Dingledine et al., 1999).

NMDA receptor je propustný pro široké spektrum kationů, jako je Na^+ , K^+ a Ca^{2+} (Liu & Zhang, 2000), přičemž právě Ca^{2+} ionty hrají důležitou roli v procesech fyziologických i patofyziologických.

Příkladem fyziologického procesu s úlohou NMDA receptoru je long term potenciace (LTP) (Lynch, 2004). Příkladem procesu patologického je přílišný efflux vápníkových iontů do buňky při nadměrné stimulaci NMDA receptorů. Tento ve svém výsledku má excitotoxické účinky, vedoucí až ke degeneraci a smrti buňky (Arundine & Tymianski, 2003). Excitotoxicita by mohla být příčinou neurodegenerace jak v případech akutních CNS nemocí, jako je epilepsie či trauma, tak nemocí dlouhotrvajících, jako je amyotrofií laterální skleróza či Alzheimerova choroba (Arundine & Tymianski, 2003; Chen & Lipton, 2006). Látky, které by tedy mohly tomuto procesu zabránit, jsou středem zájmu výzkumu, přičemž hodně si vědci slibují od nekompetitivních, případně unkompetitivních antagonistů NMDA receptorů (Chen & Lipton, 2006).

Obecně je antagonistou receptoru nazýván takový ligand, který se na receptor váže, ale neaktivuje jej, ovšem svojí vazbou brání endogenním agonistům k aktivaci receptoru. Takový ligand, který se váže mimo vazebné místo agonisty a brání aktivaci receptoru alostericky, je pak nazýván antagonistou nekompetitivním (Muir & Lees, 1995). V případě navázání nekompetitivního antagonisty je receptor inaktivován bez ohledu na koncentraci agonisty. Ketamin, jehož vazebné místo je uvnitř iontového kanálu NMDA receptoru, je nekompetitivním antagonistou NMDA receptoru. Ketamin bývá také některými autory řazen mezi antagonisty unkompetitivní, nebo také *open channel blockers*, to jest blokátory otevřeného kanálu (Muir & Lees, 1995). Unkompetitivní antagonisté jsou takové látky, které se vážou na receptor jen v případě určité konfirmace. Ketamin se váže do kanálu v momentě, kdy je uvolněn Mg^{2+} iont díky depolarizaci. Toto je výhodné právě v případě nadměrné aktivace NMDA receptoru, kdy ketamin zablokuje receptor i v případě zvýšené koncentrace ligandu (Chen & Lipton, 2006). Ketamin patří do třídy takzvaných *low-affinity blockers*, to jest z NMDA receptoru rychleji disociuje, což je obecně spojováno s méně nežádoucími efekty (Muir & Lees, 1995).

Ovlivnění NMDA receptoru může vést k celé řadě efektů, přes efflux vápníku do buňky, koncentraci glutamátu, po ovlivnění činnosti AMPA receptoru a dalších, jak bude probíráno dále.

3.2 Ovlivnění glutamátergí neurotransmise

Glutamát je jedním z nejdůležitějších neurotransmiterů v centrální nervové soustavě, který aktivuje jak ionotropní AMPA a NMDA receptory, tak metabotropní mGlu1-8 receptory. Z extracelulárního prostoru je glutamát odstraněn *excitatory amino-acid* transportery gliových buněk, v nichž je glutamát glutamin syntetázou převeden na glutamin. Glutamin je poté transportován zpět do neuronu, kde je převeden glutaminázou zpět na glutamát (Lang & Borgwardt 2013). Poruchy v počtu či funkci glií mohou tedy vést k vyšší koncentraci glutamátu v synaptické štěrbině (Giacomo et al., 2012).

Četné studie se zabývaly rolí glutamátu v poruchách nálady. Některé ukázaly, že stres vede ke zvýšenému výlevu glutamátu (Moghaddam, 1993) a excitotoxickým účinkům (Arundine & Tymianski, 2003; Chen & Lipton, 2006). Patologické morfologické i histologické změny pak byly pozorovány především v hippocampu a prefrontálním kortexu u pacientů s depresí (Rajkowska et al., 1999; Sheline et al., 1996). Další pak v souladu s touto myšlenkou ukázaly, že látky, které zvyšují odbourávání glutamátu ze synapse, mohou pomoci ve zlepšení příznaků stresu a mohou také mít antidepresivní účinky (Banaser et al., 2010; Mineur et al., 2007).

Studie z roku 1997, zaměřená na výzkum schizofrenie, ukázala dvojfázový vliv ketaminu na výlev glutamátu v prefrontálním kortexu u potkanů, tedy, subanestetická dávka (30mg/kg) zvýšila výlev glutamátu, zatímco dávka anestetická (200mg/kg) výlev glutamátu snížila (Moghaddam et al., 1997). Ke stejnému výsledku ohledně hladiny glutamátu v prefrontálním kortexu (PFC) u potkana po podání subanestetické dávky ketaminu došla i další studie, přičemž anestetická dávka 80mg/kg neměla na hladinu glutamátu vliv (Chowdhury et al., 2012). Důvodem, proč subanestetická dávka ketaminu vedla ke zvýšení hladiny glutamátu, by dle Homayoun a Moghaddam mohla být inhibice GABA (*gamma-aminobutyric acid*) interneuronů, která vede k disinhibici pyramidálních neuronů (Homayoun & Moghaddam, 2007), což by pak ve výsledku mělo ovlivnit propustnost AMPA receptorů a dále aktivaci *mammalian target of rapamycin* (mTOR) signální dráhy (Duman et al., 2012; Li et al., 2010). K této hypotéze se v zásadě přiklání i další studie z roku 2012, ovšem Cornwell et al. (2012) věří, že konečným stádiem antidepresivních změn jsou glutamátergí transmise nespojené s NMDA receptorem a NMDA transmise je

iniciátorem počátečních efektů, například přes *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) (Cornwell et al., 2012).

Antidepresivní účinek je spojován i s ovlivněním metabotropních receptorů glutamátu mGlu2/3 (Chaki et al., 2004), nacházejících se na presynaptické membráně a regulujících negativně výlev glutamátu. V případě podání antagonisty tohoto receptoru nastává antidepresivní účinek, který je potlačen premedikací rapamycinem, což poukazuje na zapojení signální dráhy mTOR, ač autoři sami vybízejí, že je třeba dalších studií k ověření, že mTOR aktivace je zprostředkována ovlivněním mGlu2/3 receptorů (Koike et al., 2011). Dále pak byl antidepresivní účinek vyrušen 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxalin-2,3-dionem (NBQX), antagonistou AMPA receptoru, což ukazuje na úlohu tohoto receptoru v pozorovaném efektu (Karasawa et al., 2005). Vzhledem k tomu, že podání NBQX zvrátilo i účinek ketaminu (Li et al., 2010), naznačuje to, že stimulace AMPA receptoru může být společným prvkem v účinku jak antagonistů mGlu2/3, tak ketaminu, a i tato záležitost si zaslouží další zájem (Koike et al., 2011).

3.3 AMPA

AMPA receptory jsou, podobně jako NMDA receptory, ionotropní glutamátové receptory. Podobně jako NMDA receptory, i AMPA receptory jsou heteromerní tetrametry, poskládané z podjednotek GluR1-4, kódovaných odlišnými geny. AMPA receptory jsou propustné pro Na⁺, K⁺ a v případě nepřítomnosti GluR2 podjednotky, i Ca²⁺ ionty (Kew & Kemp, 2005).

Jak již bylo navrženo výše, antidepresivní účinek ketaminu by mohl být zprostředkován právě skrze AMPA receptory. Tuto hypotézu podporuje studie Maeng et al. u myší, kdy podání NBQX vyrušilo antidepresivní účinek ketaminu (Maeng et al., 2008). Ke stejnému závěru došla i studie Li et al. (2010).

Další studie zkoumala vliv AMPA (agonista AMPA receptoru) a ketaminu, popřípadě kombinaci těchto dvou látek na *Wistar-Kyoto* potkany ve FST a SPT, kdy bylo ukázáno, že i AMPA má antidepresivní účinek, což pět přivádí k hypotéze mechanismu antidepresivního účinku přes AMPA receptory. V případě podání ketaminu a AMPA současně v dávkách, které nejsou efektivní samy o sobě, se antidepresivní účinek dostavil (Akinfiresoye & Tizabi, 2013). Tyto závěry jsou podpořeny další studií, provedené opět u *Wistar* a *Wistar-Kyoto* potkanů, kdy

administrace ketaminu vedla ke změně denzity AMPA/NMDA receptorů v hippocampu (Tizabi et al., 2012).

3.4 D2 receptory

Dopamin (DA) je neurotransmitter patřící do rodiny katecholaminů, v mozku kontroluje aktivity spojené s lokomocí, kognitivní schopnosti i endokrinologií a patologie v produkci a distribuci dopaminu jsou spojené s nemocemi jako je Parkinsonova choroba nebo schizofrenie (Missale et al., 1998). Agonismus i antagonismus DA receptorů má různorodé efekty, od úlevy od hypokineze po halucinace a psychózy. Známe celkem 5 subtypů DA receptorů, D1-5 (Missale et al., 1998). V této kapitole bych se ráda věnovala ketaminu a jeho spojením s receptorem D2, jež patří do rodiny D2-like receptorů, které jsou především spojené s G_i (inhibičními) proteiny.

Mnohé studie ukazují zvýšení hladiny dopaminu především v PFC, jako studie Lorrain et al. (2003). Dopamin byl zvýšen v mediálním PFC u potkana po aplikaci ketaminu, přičemž sami autoři navrhují, že důsledky tohoto efektu by mohly být předmětem dalšího výzkumu. Další studie zabývající se hladinami dopaminu a glutamátu opět ukázala zvýšené hladiny dopaminu v PFC po podání ketaminu. Tento efekt byl však vyrušen podáním 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dionu, což je antagonist AMPA/kainátového receptoru. Autoři navrhují, že za tento efekt by mohla být zodpovědná stimulace excitatorních receptorů, jako jsou AMPA/kainátové, glutamátem, jehož hladinu také podání ketaminu v PFC zvětšuje (Moghaddam et al., 1997). Studie Kapur & Seeman (2002) naznačila jiný možný mechanismus účinku ketaminu, když publikovala, že afinita ketaminu k D2 receptoru byla stejná jako k NMDA receptoru, přičemž dle jejich názoru je ketamin částečný agonista/antagonista D2 receptoru a mohl by potenciálně vést ke zvýšení hladiny dopaminu skrze presynaptické autoreceptory (Kapur & Seeman, 2000).

Review Gershona et al. (2007) mimo jiné zmiňuje, že deprese může souviset s afinitou D2 receptorů v *nucleus accumbens*, kdy agonisté D2 receptoru mohou zesilovat antidepresivní efekt a antagonisté mohou efekt plně vyrušit, a že vyšší hladiny dopaminu jsou spojeny s antidepresivním efektem. Ovšem jak již je naznačeno výše, agonisté DA receptoru mohou působit psychózy (Missale et al., 1998) a vyšší hladiny dopaminu u studií provedených výše byly provázány příznaky schizofrenie (Moghaddam et al., 1997). Úloha D2 receptorů a dopaminu v depresi

tedy není zcela ujasněná. Vzhledem k tomu, že i další NMDA antagonisté vykazují antidepresivní účinky, příkladem může být studie Kaster et al. (2012), to, zda D2 receptory hrají, či nehrají roli v mechanismu účinku ketaminu jako antidepresiva, by se mohlo stát předmětem dalšího výzkumu.

4 Neuroplastické změny indukované ketaminem

Neuroplasticita je charakterizována schopností změny v síle synaptických spojení v průběhu času na základě vzrůstu či poklesu jejich aktivity. Tyto změny jsou podmíněny mnoha signálními drahami, vedoucími ke změnám výlevu neurotransmiterů i kvalitativního i kvantitativního zastoupení receptorů na membránách nervových buněk. Vzhledem k důležitosti tohoto procesu bych v této kapitole ráda pohovořila o tom, jakým způsobem ketamin ovlivňuje některé z důležitých signálních drah.

4.1 mTOR

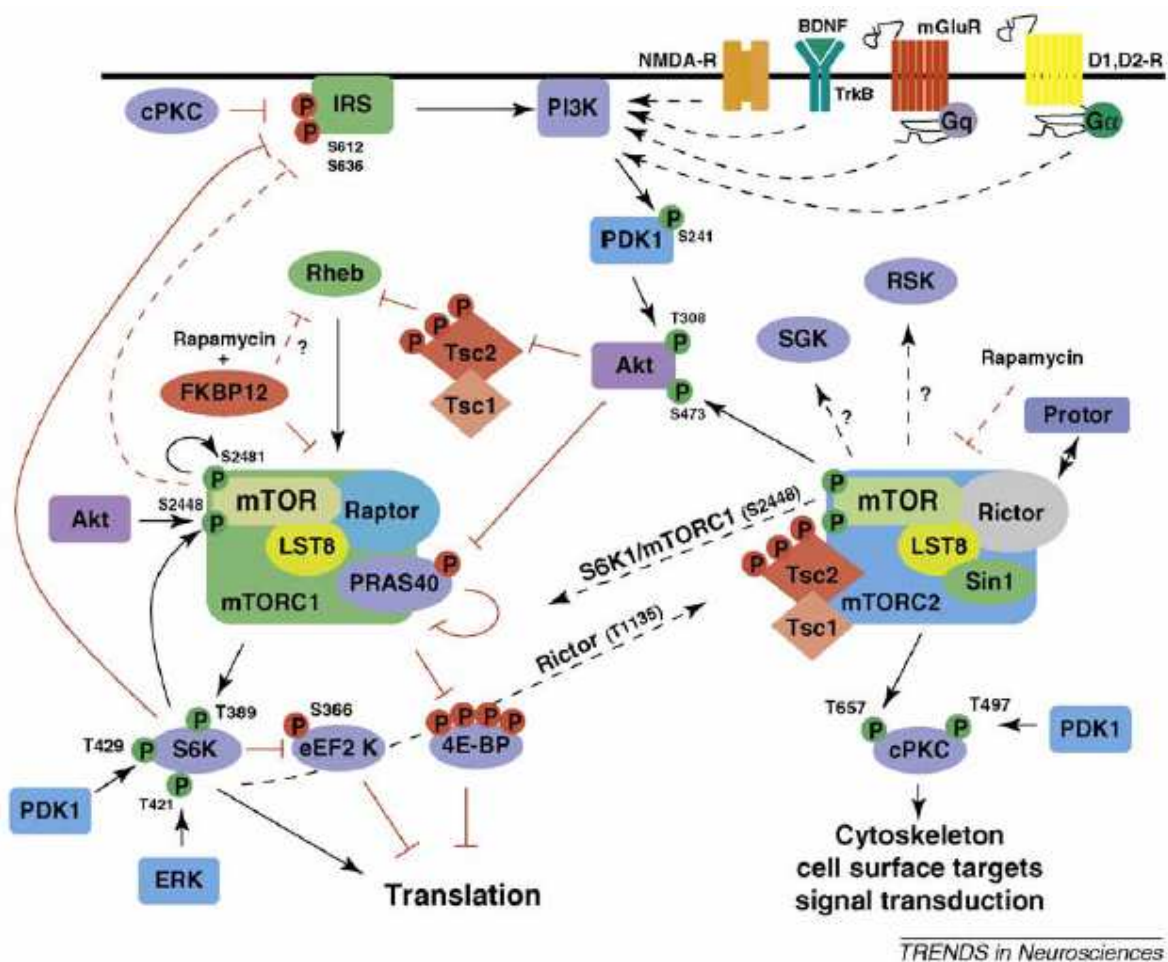
mTOR je protein kináza, která se podílí na mnohých procesech synaptické plasticity včetně LTP (Tang & Schuman, 2002) skrze regulace buněčné translace. Schéma signální dráhy mTOR je předmětem obr. 3. Odchyly v signální dráze mTOR jsou přítomny u mnoha patofyziologických onemocnění, mimo jiné i onemocnění rakovinných (Rosner et al., 2008). Známe dva hlavní komplexy mTOR kinázy, a to mTORC1 a mTORC2 (Hoeffler & Klann, 2010).

mTORC1 působí na mnoho substrátů, účastnících se buněčné translace, například p70 S6 kinázu (p70S6K), *eIF4E binding proteins* (4E-BP) nebo protein fosfatázu 2A (Hoeffler & Klann, 2010). Fosforylovaná p70S6K dále ovlivňuje mnoho pochodů buněčné translace, například *eukaryotic elongation factor 2 kinase* (eEF2K) (Hoeffler & Klann, 2010). O této signální dráze bych se ráda zmínila později.

Studie Li et al. (2010) ukázala, že ketamin aktivuje signální dráhu mTOR v PFC potkana. Jiná antidepresiva, jako například elektrokonvulzivní terapie, imipramin nebo fluoxetin signální dráhu výrazně neovlivnila. Ketamin zvýšil hladiny fosforylovaných a aktivovaných forem rozličných faktorů spojovaných s aktivací mTOR signální dráhy, jako je protein kináza B/Akt, *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), 4E-BP1 či p70S6K, přičemž hladina aktivace se odvíjela od dávky (již od 5-10mg/kg). Zrovna tak podání ketaminu zvýšilo hladiny některých

postsynaptických proteinů, jako například *postsynaptic density protein 95*, GluR1 a synapsinu I (Li et al., 2010). Hladiny výše uvedených faktorů, zrovna tak jako hladiny postsynaptických proteinů nebyly aplikací ketaminu ovlivněny v případě aplikace rapamycinu, inhibitoru mTOR signální dráhy. Podání rapamycinu vyjma toho vedlo k potlačení antidepresivních účinků testovaných v FST, LH a *novelty suppressed feeding* testu.

Studie Li et al. (2010) také testovala úlohu AMPA receptorů v účinku ketaminu (Kap. 3.3. AMPA). V souladu s již dříve provedenými se po podání NBQX, inhibitoru AMPA receptoru, hladiny 4E-BP1, p70S6K, ERK ani Akt nezvýšily.



Obr. 3 – Schéma signální dráhy mTORC1 a mTORC2. mTORC1, jemuž je v této práci věnována hlavní pozornost, je modulován kinázou Akt a dále ovlivňuje mnoho substrátů, mimo jiné S6K nebo 4E-BP a skrze tyto proteiny probíhá regulace translace. (převzato z Hoeffler & Klann 2010).

Dle dalších studií, pacienti trpící depresí se projevují anomáliemi v hladině mTOR po aplikaci ketaminu i *post-mortem* (Denk et al., 2011; Jernigan et al., 2011). Další studie pojednávající o mTOR z roku 2013 opět publikuje zvýšenou aktivitu mTOR v hippocampu potkana po aplikaci ketaminu včetně antidepresivního účinku testovaného FST i *open-field* testem a signální dráze mTOR přičítá důležitou úlohu v antidepresivním vlivu ketaminu, a to skrze zvýšenou neurogenezi, která je touto signální dráhou ovlivněna (Yang et al., 2013).

Zvýšenou fosforylaci mTOR a její účast v antidepresivním účinku u různých animálních modelů pak zmiňují i další studie (Akinfiresoye & Tizabi, 2013).

V rozporu s předchozími studiemi, současné podání ketaminu a rapamycinu vedlo k nezměněnému antidepresivnímu účinku u myši během FST. Aplikace rapamycinu vedla ke snížené fosforylaci S6 proteinu v hippocampu i kortexu, což autory vybízí spíše k úlohy mTOR signální dráhy jakožto faktoru podílejícího se na antidepresivním účinku ketaminu, než hlavního hnacího motoru (Autry et al., 2011). Rozdíl této studie v porovnání se studií Li et al. (2010) může být dán rozdílností v měření: v této studii měřili synaptosomy obohacené frakce, zatímco Autry et al. (2011) měřili surový homogenát hippocampu. Dále Autry et al. (2011) měřili tyto hladiny 30 minut po podání ketaminu, kdy se u pacientů dostávají psychotomimetické a disociativní efekty (Berman et al., 2000), zatímco synaptogeneze je zpožděna přibližně dvě hodiny, tudíž i rapamycin by ještě neměl tento efekt narušit. Z toho důvodu se zájem o mTOR signální dráhu a její úlohu v účinku ketaminu neutlumil.

4.2 eEF2K – eEF2

eEF2K je calmodulin-dependentní kináza, důležitá k regulaci elongace a tedy i translace (Monteggia et al., 2013). eEF2K patří do rodiny alfa kináz, které mají tu zvláštnost, že umí fosforylovat alfa helixy substrátu (Ryazanov 1998). eEF2K specificky fosforyluje *eukaryotic elongation factor 2* (eEF2), čímž potlačuje jeho aktivitu. eEF2 je důležitým faktorem elongace, neboť katalyzuje přesun vznikajícího proteinu z A-místa do P-místa na ribozomu, čímž uvolňuje místo přicházející aminokyselině. Jestliže je eEF2 fosforylován, uvolňuje se z ribozomu a translace je zastavena (Monteggia et al., 2013).

Jak eEF2, tak eEF2K se nachází v postsynaptickém oddílu a účastní se syntézy proteinů a tedy i synaptické aktivity. Ovlivnění influxu vápníku skrze NMDA receptory pak také ovlivňuje tuto calmodulin-dependentní kinázu a tedy i translaci.

Testování míry fosforylace eEF2 *in vitro* ukázalo, že po přidání ketaminu je fosforylace nižší, tedy elongace a translace v nepřítomnosti mozkové aktivity může probíhat ve zvýšené míře v závislosti na dávce ketaminu. Inhibice eEF2K se promítá na expresi BDNF (Autry et al., 2011).

4.3 BDNF

BDNF je homodimerní protein z rodiny neurotrofinů. Jeho činnost je zprostředkována tropomyosin receptor kinázou B (Hashimoto, 2010). Snížená hladina BDNF je spojována s chronickým stresem a depresí (Karege et al., 2002) a činnost BDNF je spojována se synaptickou plasticitou (Martinowich et al., 2007).

Účast BDNF na účinku ketaminu byla prokázána pokusem, kdy byl ketamin podán myším s vyřazeným BDNF genem (*Bdnf-knockout mice*). Ve srovnání s kontrolou, u *knockoutovaných* myší se antidepresivní účinek nedostavil (Autry et al., 2011). Zvýšená hladina BDNF po podání ketaminu byla v dalších studiích prokázána i u potkanů v hippocampu (Yang et al., 2013).

Garcia et al. (2008) ve své studii chronického působení ketaminu pozorovali, že při chronické aplikaci ketaminu se dostavil antidepresivní efekt v FST, ovšem hladiny BDNF v hippocampu zůstaly nezměněné. Autoři to vysvětlují vlivem ketaminu na chronický stres, ovšem ne ten momentální, popřípadě neúčinností chronického podávání ketaminu na BDNF v hippocampu či adaptivními mechanismy a vyvinuté toleranci na úrovni proteinů vůči efektu ketaminu v hippocampu, úlohu BDNF v antidepresivním účinku ketaminu ovšem nevyklučují.

K podobnému závěru pak došla studie Autry et al. (2011), jež také pozorovala zvýšené hladiny BDNF 30 min po aplikaci ketaminu, ovšem ne po 24 hodinách. Došli tedy k závěru, že BDNF translace, ovšem ne transkripce, hraje roli v antidepresivním efektu a dlouhotrvající efekt ketaminu je podmíněn změnami v synaptické plasticitě iniciovanými zvýšenou BDNF translací.

4.4 GSK-3

Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) je protein kináza, která je schopná fosforylovat glykogen syntázu, od čehož je také odvozen její název (Embi et al., 1980). GSK-3 patří ke kinázám modulujícím široké rozpětí procesů, jako je genová exprese, synaptická plasticita, neurogeneze a další (Doble & Woodgett, 2003; Frame & Cohen, 2001; Jope & Johnson, 2004). GSK-3 fosforyluje přes 50 substrátů (Doble & Woodgett, 2003; Jope & Johnson, 2004), přičemž specialitou GSK-3 je to, že mnoho ze substrátů je prvně fosforylováno jinou kinázou, než proběhne fosforylace GSK-3 (Doble & Woodgett, 2003). To, že by se GSK-3 mohla účastnit modulace poruch nálad, bylo ukázáno v roce 1996, kdy se ukázalo, že lithium je přímý inhibitor této kinázy (Klein & Melton, 1996).

Studie Beurel et al. (2011) u myší v modelu LH pak ukázala, že podání ketaminu vede k inhibici GSK-3, zatímco u myší s nepřetržitě aktivním GSK-3 se antidepressivní účinek nedostavil. Stejným účinkem se poté projevilo podání nadměrné dávky lithia, inhibitoru GSK-3 (Beurel & Song 2011). V rozporu s tímto pozorováním, studie Mullera et al. (2013) inhibici GSK-3 u potkanů nepozorovala, přesněji řečeno GSK-3 β v synaptických váčcích. Sami autoři však účinek GSK-3 na antidepressivním efektu ketaminu nevyklučují a rozdíl výsledků přisuzují rozdílné metodice a animálnímu modelu.

4.5 Denzita trnů pyramidových neuronů

Stres a deprese způsobují atrofii trnů pyramidových neuronů prefrontálního kortexu (Liu & Aghajanian, 2008). Ketamin zvyšuje hladinu *activity-regulated cytoskeleton-associated* proteinu a dalších synaptických proteinů, jako je synapsin I. Vyjma toho také zvyšuje denzitu trnů v V. vrstvě pyramidálních neuronů a to jak v proximálním, tak v distálním segmentu (Li et al., 2010). Dále pak zvyšuje populaci „*mushroom spines*“, které jsou známkou vyžívání a zesílení synaptických spojení (Yoshihara, De Roo, & Muller, 2009). K podobnému závěru došla i další studie (Li et al., 2011). Tedy ovlivnění denzity a kvality synaptických trnů se zdá být jedním z důsledků účinku ketaminu.

4.6 Formování synaptických váčků

V neposlední řadě, některé studie ukazují, že ketamin také ovlivňuje formování presynaptických váčků a tedy i vylučování neurotransmiterů. Na tomto procesu se podílí mnoho proteinů, například *soluble NSF attachment protein receptor* (SNARE) komplex sestávající z plazmatické membrány a sdružených proteinů Syntaxinu 1A a *soluble NSF attachment proteinu 25* (SNAP25) a dále *vesicle-associated protein 2* (Südhof, 2004) a mnoho dalších. Dále se na formování a zakotvení váčků v primární zóně podílí například protein synapsin I, který limituje zakotvení váčků (Fdez & Hilfiker, 2006), oproti tomu synaptotagmin I, se podílí na splývání váčku s membránou (Verona et al., 2000). Ketamin se zdá ovlivňuje hladiny proteinů směrem k inhibici výlevu neurotransmiterů skrze výše jmenované proteiny (Müller et al., 2013).

5 Modulace/prodloužení účinku ketaminu a další

Jak již je popsáno výše (Kap. 2.2.2. Nevýhody ketaminu), antidepresivní účinek ketaminu přetrvává pouze po velmi omezenou dobu, v případě studie Bechtholt-Gompf et al. (2011) u myší již po týdnu nebyl antidepresivní efekt pozorován. Z tohoto důvodu je žádoucí hledat metody, jimiž by bylo možné účinek ketaminu prodloužit. Tomu bych se tedy v této kapitole ráda věnovala.

Vyjma tématu prodloužení účinku ketaminu bych se v této kapitole ráda zmínila o některých dalších důležitých studiích týkajících se modulací a faktorů účinku ketaminu jako antidepresiva.

5.1 Současné podání s jinými léčivy

Příkladem spoluaplikace může být premedikace tramadolem, což je analgetikum působící přes opioidní receptory a ovlivňování hladin serotoninu a norepinefrinu. Sám tramadol, který vyjma ovlivnění opioidních receptorů zabraňuje zpětnému vychytávání serotoninu a norepinefrinu, má antidepresivní účinky v modelu FST při aplikaci 10mg/kg, při nižší dávce ovšem už ne. V případě premedikace nižší dávkou (5mg/kg) a následnou aplikací ketaminu se ovšem antidepresivní účinek dostavuje

a je zvýšený (Yang et al., 2012). V rámci této studie byla měřena i hladina mTOR, která opět byla zvýšená jak v hippocampu, tak v prefrontálním kortexu.

Dalším takovým příkladem je pak aplikace imipraminu společně s ketaminem. Imipramin je tricyklické antidepresivum, které silně inhibuje zpětné vychytávání serotoninu a norepinefrinu. I v tomto případě, pokud jsou dané látky podané společně v množství, ve kterém samostatně antidepresivní účinek neměly, efekt se dostavuje (Réus et al., 2011). Podobný efekt byl pozorován i v případě podání imipraminu s jinými antagonisty NMDA receptoru, amantadinem, memantinem či neramexanem (Rogóz et al., 2002).

Zrovna tak propofol, hojné anestetikum, u něhož se v poslední době také spekuluje o tom, že inhibuje zpětné vychytávání serotoninu, podané společně s ketaminem, antidepresivní účinek zesiluje (Wang et al., 2011).

Z výše uvedených studií se tedy zdá, že aplikace ketaminu společně s léčivem, jež inhibuje zpětné vychytávání serotoninu a norepinefrinu, antidepresivní účinek zesiluje. Toto je ovšem pozorováno i u látek s jiným mechanismem účinku. Příkladem může být již výše probíraná studie Kaster et al. (2012). V případě spoluaplikace ketaminu a adenosinu v dávkách, jež samy o sobě nemají antidepresivní efekt, se dostaví účinek synergistický. Z toho by tedy bylo možné usuzovat souhru signalizace skrze adenosinové a NMDA receptory.

5.2 Opakovaná aplikace

Dávkování je také důležitým parametrem modulace účinku ketaminu, jak již napovídá různé působení dávek anestetických a subanestetických (Kap. 2.1. Historické využití ketaminu). Co se týče antidepresivního účinku ketaminu, většina studií byla provedena pouze s jednorázovou aplikací ketaminu (Berman et al., 2000). Studie Murrough et al. (2013) studovala efekt šesti aplikací ketaminu. Pacienti, kteří neodpověděli na první dávku ketaminu výrazným zlepšením symptomů, na léčbu již v průběhu pokusu nereagovali. Průměrně ovšem účinek ketaminu po opakovaných aplikacích setrval 18 dní po poslední aplikaci, s velkými odchylkami mezi účastníky studie (4-83 dní). K podobným závěrům došla i další studie aan het Rot et al. (2010), která ovšem měla spíše za cíl zjistit bezpečnost opakovaného podávání ketaminu. Autoři upozorňují na fakt, že délka účinku je modulována genetickými

predispozicemi, rozdílnou rychlostí metabolismu ketaminu a jiné, a ketamin navrhuje spíše jako léčivo překlenovací.

5.3 Intersexuální rozdíly účinku ketaminu

Obecně je s depresí každoročně diagnostikováno více žen nežli mužů (Kessler, 2003), což je připisováno jak anatomickým intersexuálním odlišnostem mozku, tak odlišnému hormonálnímu zázemí (Kessler, 2003).

Proto také byla věnována pozornost intersexuálnímu vlivu na účinek ketaminu. Bylo ukázáno, že antidepresivní účinek ketaminu se u samic potkana projevuje v dávkách, které ještě u samců nejsou aktivní. Tento účinek je ovšem zvrácen v případě samic s odstraněnými vaječníky, ty byly vůči antidepresivnímu účinku plně imunní (Carrier & Kabbaj, 2013). To tedy naznačuje, že pohlaví by mělo být zvaženo při zkoumání účinku ketaminu a problematice by mohlo být věnováno více pozornosti.

5.4 Anatomická specifita působení ketaminu

Jak již je popsáno výše, ketamin působí různými mechanismy na různé signální dráhy, ale vyjma toho také působí v různých oblastech mozku. S depresí jsou spojovány hlavně struktury subgenualní oblasti anteriorního cingulárního kortexu (sgACC), habenuly a amygdaly, jak je shrnuto ve studii z roku Carlson et al. (2013). Účinek ketaminu je pak spojován s hippokampem a PFC (Akinfiresoye & Tizabi, 2013; Li et al., 2010).

Ve studii Carlson et al. (2013), byl měřen metabolismus mozku 2 hodiny po podání ketaminu u pacientů s depresí, přičemž obrazová analýza probíhala ve dvou krocích: *region of interest* (ROI) analýza pro habenulu, amygdalu a sgACC s vedlejšími ROI anteriorním hippokampem a mediálním thalamem, *Voxelwise* analýza pak byla použita pro ostatní oblasti. Metabolismus před a po podání ketaminu se celkově nezměnil, ovšem ROI odhalila snížený metabolismus v pravé habenule, struktuře mimo jiné spojené s reakcí na stres a odměny, dále byl zvýšen metabolismus v pravé amygdale. ROI neodhalilo změny metabolismu v sgACC, levé amygdale a levé habenule. *Voxelwise* analýza také podpořila výsledek pozorovaný u habenuly, vyjma toho vyhodnotila snížený metabolismus ve ventrolaterálním prefrontálním kortexu a dorzolaterálním prefrontálním kortexu. Pozorovaná lateralita

výsledku u habenuly je vysvětlována částečně metodikou, ovšem role je přisuzována i rozdílné funkci pravé a levé habenuly u zvířecích modelů, ač u lidí není zcela rozdíl funkce vyjasněn. Výsledky analýzy metabolismu amygdaly se neshodovala s hypotézou autorů, role je jimi přisuzována také obecně nejednotným výsledkům ohledně změn velikosti a metabolismu amygdaly v depresi. Změny metabolismu korelovaly s antidepresivním efektem v případech *superior* a *middle temporal gyri* a parahippokampálního gyri (PHG), přičemž PHG je spojováno s BDNF a antidepresivním účinkem. Vzhledem k limitacím studie, jako je malý vzorek pacientů, si výsledky žádají dalšího výzkumu.

Závěr

Antidepresivní účinek ketaminu byl ukázán mnoha studii, přičemž ty nejdůležitější zmiňují ve své práci. Mnozí autoři si uvědomují limitace studií antidepresivního účinku ketaminu jak v humánní medicíně, jako může být odstranění placebo efektu vzhledem k psychotomimetickým efektům ketaminu, tak v experimentálním výzkumu, kdy použité metodiky, jako například více probíraný *forced swimming test*, nemusí být stoprocentně spolehlivé. Nedostatky metodik je však možné odstranit a účinek ketaminu jakožto antidepresiva je silně podložen.

NMDA receptor má nezastupitelnou úlohu v důležitých nervových činnostech, jako je dlouhodobá potenciace. Činnost NMDA receptoru je modulována mnoha faktory, jak podjednotkovým složením, tak vazebnými místy nacházejícími se na tomto receptoru. Ketamin, jež se váže do iontového kanálu tohoto receptoru, patří do rodiny nekompetitivních antagonistů, které jsou ve středu zájmu i v potenciální ochraně proti přílišnému effluxu vápníku do buňky vedoucímu ke smrti buňky. Modulace tohoto receptoru ketaminem má vliv na glutamátergní transmisi, přičemž právě odchylky v glutamátergní transmisi se zdají také hrát roli v patofyziologii deprese. Navržených mechanismů účinku ketaminu je více, jako je ovlivnění glutamátergní transmise a skrze aktivaci AMPA receptorů stimulace synaptogeneze. Dalším potenciálním mechanismem účinku by dle některých studií mohlo být ovlivnění hladin dopaminu díky afinitě ketaminu k D2 receptorům. Tato hypotéza ovšem není zcela vyjasněná a vzhledem k tomu, že dopamin hraje také svoji roli ve schizofrenii, přikláním se spíše k hypotéze účinku ketaminu skrze signalizaci NMDA receptorem.

Ketamin indukuje četné synaptické změny. Ve své práci se zabývám vlivem ketaminu na signální dráhu mTOR, přičemž výsledky ohledně vlivu této dráhy jsou poměrně konzistentní a naznačují zahrnutí této dráhy v účinku ketaminu. Také eEF2K-eEF2 signální dráha, jejíž aktivace může být zprostředkována právě mTOR signální dráhou, se zdá mít svoji roli v účinku ketaminu. Úloha BDNF, jež může být aktivován dráhou eEF2K-eEF2, v antidepresivním efektu ketaminu je také podpořena mnohými studii, ač se BDNF přisuzuje role spíše v počátečních změnách vyvolaných ketaminem. Nepříliš vyjasněná je úloha GSK-3 v synaptických změnách vyvolaných ketaminem, přičemž v této oblasti by mohlo být provedeno více studií. Ve svém výsledku výše jmenované procesy vedou k tvorbě nových synaptických trnů

a jejich vyžívání, přičemž právě atrofie synaptických trnů a snížená neuroplasticita bývají jmenovány jako možná příčina vzniku deprese. V neposlední řadě ketamin ovlivňuje formování synaptických váček směrem k inhibici výlevu neurotransmiterů. Závěrem bych jen ráda konstatovala, že v oblasti vlivu ketaminu na neuroplasticitu je prováděna široká škála studií, které pomáhají lépe pochopit mechanismy působení ketaminu i úlohy neuroplasticity v patofyziologii deprese.

Pozornost je věnována i modulaci či prodloužení antidepressivního účinku ketaminu. V případě opakované aplikace ketaminu se antidepressivní účinek ketaminu prodlužuje do řádu týdnů, výsledky jsou ovšem velmi variabilní. Větší potenciál se jeví ve spoluaplikaci ketaminu s látkami, které inhibují zpětné vstřebávání serotoninu či norepinefrinu, popřípadě zvyšují výlev těchto neurotransmiterů. V tom případě se efekt ketaminu zvyšuje. Premedikace barbituráty zase zmírňuje psychotomimetické efekty ketaminu. Z toho důvodu usuzuji, že výzkum směrem ke spoluaplikaci dalších látek s ketaminem by mohl být slibnou strategií.

Výzkum účinku ketaminu se věnuje i jiným aspektům, jako je vliv pohlaví v antidepressivním efektu ketaminu, nebo anatomická specifita účinku ketaminu. Pohlaví se zdá hrát poměrně důležitou roli v efektu ketaminu, bohužel ovšem v této oblasti neexistuje příliš mnoho studií. Tato problematika by si pravděpodobně zasloužila vyšší pozornost. Zrovna tak v oblasti anatomické specifity účinku ketaminu není publikováno mnoho studií, přičemž data z takto zaměřeného výzkumu by mohla být cenná v hlubším pochopení patofyziologie deprese.

Efekt ketaminu jakožto antidepressiva dává výzkumu i léčbě deprese novou perspektivu. Jsem si vědoma toho, že v rámci bakalářské práce není možné pokrýt veškeré znalosti, jichž bylo v této oblasti nabyto, hlubší zpracování tematiky může být předmětem diplomové práce. Vzhledem ke komplexnosti deprese jakožto patofyziologického stavu, ale i účinků ketaminu, zůstává v této oblasti stále mnoho nezodpovězených otázek. Právě výzkum ketaminu jako antidepressiva by mohl pomoci některé tyto otázky zodpovědět a směřovat výzkum k vývoji nových, rychleji působících antidepressiv s vyšší účinností.

Seznam použité literatury

- aan het Rot, M., Collins, K. A., Murrough, J. W., Perez, A. M., Reich, D. L., Charney, D. S., & Mathew, S. J. (2010). Safety and efficacy of repeated-dose intravenous ketamine for treatment-resistant depression. *Biological Psychiatry*, *67*, 139–145.
- Akinfiresoye, L., & Tizabi, Y. (2013). Antidepressant effects of AMPA and ketamine combination: role of hippocampal BDNF, synapsin, and mTOR. *Psychopharmacology*.
- Artigas, F. (2013). Developments in the field of antidepressants, where do we go now? *European Neuropsychopharmacology*.
- Arundine, M., & Tymianski, M. (2003). Molecular mechanisms of calcium-dependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium*, *34*, 325–337.
- Autry, A. E., Adachi, M., Nosyreva, E., Na, E. S., Los, M. F., Cheng, P., ... Monteggia, L. M. (2011). NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses. *Nature*, *475*, 91–95.
- Banasr, M., Chowdhury, G. M. I., Terwilliger, R., Newton, S. S., Duman, R. S., Behar, K. L., & Sanacora, G. (2010). Glial pathology in an animal model of depression: reversal of stress-induced cellular, metabolic and behavioral deficits by the glutamate-modulating drug riluzole. *Molecular Psychiatry*, *15*, 501–511.
- Beck, A. . T. (1978). Beck depression inventory. *Depression*, *2006*, 2–4.
- Bechtholt-Gompf, A. J., Smith, K. L., John, C. S., Kang, H. H., Carlezon, W. A., Cohen, B. M., & Ongür, D. (2011). CD-1 and Balb/cJ mice do not show enduring antidepressant-like effects of ketamine in tests of acute antidepressant efficacy. *Psychopharmacology*, *215*, 689–695.
- Belmaker, R. H., & Agam, G. (2008). Major depressive disorder. *The New England Journal of Medicine*, *358*, 55–68.
- Berman, R. M., Cappiello, A., Anand, A., Oren, D. A., Heninger, G. R., Charney, D. S., & Krystal, J. H. (2000). Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biological Psychiatry*, *47*, 351–354.
- Beurel, E., Song, L., & Jope, R. S. (2011). Inhibition of glycogen synthase kinase-3 is necessary for the rapid antidepressant effect of ketamine in mice. *Molecular Psychiatry*, *16*, 1068–1070.
- Boyce-Rustay, J. M., & Holmes, A. (2006). Genetic inactivation of the NMDA receptor NR2A subunit has anxiolytic- and antidepressant-like effects in mice. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *31*, 2405–2414.
- Carrier, N., & Kabbaj, M. (2013). Sex differences in the antidepressant-like effects of ketamine. *Neuropharmacology*, *70*, 27–34.

- Cornwell, B. R., Salvatore, G., Furey, M., Marquardt, C. A., Brutsche, N. E., Grillon, C., & Zarate Jr., C. A. (2012). Synaptic potentiation is critical for rapid antidepressant response to ketamine in treatment-resistant major depression. *Biological Psychiatry*, *72*, 555–561.
- Cryan, J. F., Valentino, R. J., & Lucki, I. (2005). Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *29*, 547–569.
- Denk, M. C., Rewerts, C., Holsboer, F., Erhardt-Lehmann, A., & Turck, C. W. (2011). Monitoring ketamine treatment response in a depressed patient via peripheral mammalian target of rapamycin activation. *The American Journal of Psychiatry*, *168*, 751–752.
- Dingledine, R., Borges, K., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Reviews*, *51*, 7–61.
- Doble, B. W., & Woodgett, J. R. (2003). GSK-3: tricks of the trade for a multi-tasking kinase. *Journal of Cell Science*, *116*, 1175–1186.
- Drugan, R. C., Basile, A. S., Ha, J.-H., Healy, D., & Ferland, R. J. (1997). Analysis of the importance of controllable versus uncontrollable stress on subsequent behavioral and physiological functioning. *Brain Research Protocols*, *2*, 69–74.
- Dulawa, S. C., & Hen, R. (2005). Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *29*, 771–783.
- Duman, R. S., Li, N., Liu, R.-J., Duric, V., & Aghajanian, G. (2012). Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine. *Neuropharmacology*, *62*, 35–41.
- Embi, N., Rylatt, D. B., & Cohen, P. (1980). Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle: separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *European Journal of Biochemistry*, *107*, 519–527.
- Fdez, E., & Hilfiker, S. (2006). Vesicle pools and synapsins: new insights into old enigmas. *Brain Cell Biology*, *35*, 107–115.
- Frame, S., & Cohen, P. (2001). GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *The Biochemical Journal*, *359*, 1–16.
- Fujáková, M., Páleníček, T., Bubeníková-Valešová, V., & Horáček, J. (2010). Ketamine: clinical and experimental use and abuse. *Psychiatrie*, *14*, 47–53.
- Garcia, L. S., Comim, C. M., Valvassori, S. S., Réus, G. Z., Andreazza, A. C., Stertz, L., ... Quevedo, J. (2008). Chronic administration of ketamine elicits antidepressant-like effects in rats without affecting hippocampal brain-derived neurotrophic factor protein levels. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *103*, 502–506.

- Giacomo, S., Willem, van der V. J., Yan, Z., Stefano, M., Rodrigo, M.-V., Jacqueline, B., ... Zarate Jr., C. A. (2012). An investigation of amino-acid neurotransmitters as potential predictors of clinical improvement to ketamine in depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *15*, 1063–1072.
- Green, S. M., Rothrock, S. G., Lynch, E. L., Ho, M., Harris, T., Hestdalen, R., ... Westcott, K. (1998). Intramuscular ketamine for pediatric sedation in the emergency department: safety profile in 1,022 cases. *Annals of Emergency Medicine*, *31*, 688–697.
- Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *23*, 56–62.
- Hamilton, P. J., Siemer, M., & Gotlib, I. H. (2008). Amygdala volume in major depressive Disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Molecular Psychiatry*, *13*, 993–1000.
- Hashimoto, K. (2010). Brain-derived neurotrophic factor as a biomarker for mood disorders: an historical overview and future directions. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, *64*, 341–357.
- Hoeffler, C. A., & Klann, E. (2010). mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends in Neurosciences*, *33*, 67–75.
- Holmes, A. (2001). Targeted gene mutation approaches to the study of anxiety-like behavior in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *25*, 261–273.
- Homayoun, H., & Moghaddam, B. (2007). NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, *27*, 11496–11500.
- Chaki, S., Yoshikawa, R., Hirota, S., Shimazaki, T., Maeda, M., Kawashima, N., ... Nakazato, A. (2004). MGS0039: a potent and selective group II metabotropic glutamate receptor antagonist with antidepressant-like activity. *Neuropharmacology*, *46*, 457–467.
- Chen, H.-S. V., & Lipton, S. A. (2006). The chemical biology of clinically tolerated NMDA receptor antagonists. *Journal of Neurochemistry*, *97*, 1611–1626.
- Chowdhury, G. M. I., Behar, K. L., Cho, W., Thomas, M. A., Rothman, D. L., & Sanacora, G. (2012). ¹H-[¹³C]-nuclear magnetic resonance spectroscopy measures of ketamine's effect on amino acid neurotransmitter metabolism. *Biological Psychiatry*, *71*, 1022–1025.
- Ibrahim, L., Diazgranados, N., Luckenbaugh, D. A., Machado-Vieira, R., Baumann, J., Mallinger, A. G., & Zarate Jr., C. A. (2011). Rapid decrease in depressive symptoms with an N-methyl-d-aspartate antagonist in ECT-resistant major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *35*, 1155–1159.

- Jernigan, C. S., Goswami, D. B., Austin, M. C., Iyo, A. H., Chandran, A., Stockmeier, C. A., & Karolewicz, B. (2011). The mTOR signaling pathway in the prefrontal cortex is compromised in major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *35*, 1774–1779.
- Joep, R. S., & Johnson, G. V. W. (2004). The glamour and gloom of glycogen synthase kinase-3. *Trends in Biochemical Sciences*, *29*, 95–102.
- Kapur, S., & Seeman, P. (2000). Ketamine has equal affinity for NMDA receptors and the high-affinity state of the dopamine D2 receptor. *Biological Psychiatry*, *49*, 954–957.
- Karasawa, J., Shimazaki, T., Kawashima, N., & Chaki, S. (2005). AMPA receptor stimulation mediates the antidepressant-like effect of a group II metabotropic glutamate receptor antagonist. *Brain Research*, *1042*, 92–98.
- Karege, F., Perret, G., Bondolfi, G., Schwald, M., Bertschy, G., & Aubry, J.-M. (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Research*, *109*, 143–148.
- Kaster, M. P., Machado, D. G., Santos, A. R. S., & Rodrigues, A. L. S. (2012). Involvement of NMDA receptors in the antidepressant-like action of adenosine. *Pharmacological Reports*, *64*, 706–713.
- Kendler, K. S., Gardner, C. O., & Prescott, C. A. (1999). Clinical characteristics of major depression that predict risk of depression in relatives. *Archives of General Psychiatry*, *56*, 322–327.
- Kendler, K. S., Gatz, M., Gardner, C. O., & Pedersen, N. L. (2006). A Swedish national twin study of lifetime major depression. *American Journal of Psychiatry*, *163*, 109–114.
- Kessler, R. C. (2003). Epidemiology of women and depression. *Journal of Affective Disorders*, *74*, 5–13.
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K. R., ... Wang, P. S. (2003). The epidemiology of major depressive disorder. *The Journal of American Medical Association*, *289*, 3095–3105.
- Kew, J. N. C., & Kemp, J. A. (2005). Ionotropic and metabotropic glutamate receptor: structure and pharmacology. *Psychopharmacology*, *179*, 4–29.
- Klein, P. S., & Melton, D. A. (1996). A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *93*, 8455–8459.
- Koike, H., Iijima, M., & Chaki, S. (2011). Involvement of the mammalian target of rapamycin signaling in the antidepressant-like effect of group II metabotropic glutamate receptor antagonists. *Neuropharmacology*, *61*, 1419–1423.

- Krystal, J. H., Karper, L. P., Seibyl, J. P., Freeman, G. K., Delaney, R., Bremner, J. D., ... Charney, D. S. (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Archives of General Psychiatry*, *51*, 199–214.
- Lang, U. E., & Borgwardt, S. (2013). Molecular mechanisms of depression: perspectives on new treatment strategies. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *31*, 761–777.
- Li, N., Lee, B., Liu, R., Banasr, M., Dwyer, J. M., Iwata, M., ... Duman, R. S. (2010). mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*, *329*, 959–964.
- Li, N., Liu, R.-J., Dwyer, J. M., Banasr, M., Lee, B., Son, H., ... Duman, R. S. (2011). Glutamate N-methyl-d-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biological Psychiatry*, *69*, 754–761.
- Liu, R.-J., & Aghajanian, G. K. (2008). Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*, 359–364.
- Liu, Y., & Zhang, J. (2000). Recent development in NMDA receptors. *Chinese Medical Journal*, *113*, 948–956.
- Lynch, M. A. (2004). Long-term potentiation and memory. *Physiological Reviews*, *84*, 87–136.
- Maeng, S., Zarate Jr., C. A., Du, J., Schloesser, R. J., McCammon, J., Chen, G., & Manji, H. K. (2008). Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors. *Biological Psychiatry*, *63*, 349–352.
- Martinowich, K., Manji, H., & Lu, B. (2007). New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neuroscience*, *10*, 1089–1093.
- Mineur, Y. S., Picciotto, M. R., & Sanacora, G. (2007). Antidepressant-like effects of ceftriaxone in male C57BL/6J mice. *Biological Psychiatry*, *61*, 250–252.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*, *78*, 189–225.
- Moghaddam, B. (1993). Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *Journal of Neurochemistry*, *60*, 1650–1657.

- Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., & Daly, D. (1997). Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, *17*, 2921–2927.
- Monteggia, L. M., Gideons, E., & Kavalali, E. T. (2013). The role of eukaryotic elongation factor 2 kinase in rapid antidepressant action of ketamine. *Biological Psychiatry*, *73*, 1199–1203.
- Montgomery, S. A., & Asberg, M. (1979). A new depression scale designed to be sensitive to change. *British Journal of Psychiatry*, *134*, 382–389.
- Muir, K. W., & Lees, K. R. (1995). Clinical experience with excitatory amino acid antagonist drugs. *Stroke*, *26*, 503–513.
- Müller, H. K., Wegener, G., Liebenberg, N., Zarate Jr., C. A., Popoli, M., & Elfving, B. (2013). Ketamine regulates the presynaptic release machinery in the hippocampus. *Journal of Psychiatric Research*, *47*, 892–899.
- Murrough, J. W., Perez, A. M., Pillemer, S., Stern, J., Parides, M. K., Aan Het Rot, M., ... Iosifescu, D. V. (2013). Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated ketamine infusions in treatment-resistant major depression. *Biological Psychiatry*, *74*, 250–256.
- Nielsen, C. K., Arnt, J., & Sánchez, C. (2000). Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behavioural Brain Research*, *107*, 21–33.
- O'Neil, M. F., & Moore, N. A. (2003). Animal models of depression: are there any? *Human Psychopharmacology*, *18*, 239–254.
- Olesen, J., Gustavsson, A., Svensson, M., Wittchen, H.-U., & Jönsson, B. (2012). The economic cost of brain disorders in Europe. *European Journal of Neurology*, *19*, 155–162.
- Olney, J. W., & Farber, N. B. (1995). Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *52*, 998–1007.
- Preskorn, S. H. (2012). Ketamine: the hopes and the hurdles. *Biological Psychiatry*, *72*, 522–523.
- Rajkowska, G., Miguel-Hidalgo, J. J., Wei, J., Dilley, G., Pittman, S. D., Meltzer, H. Y., ... Stockmeier, C. A. (1999). Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biological Psychiatry*, *45*, 1085–1098.

- Réus, G. Z., Stringari, R. B., Ribeiro, K. F., Ferraro, A. K., Vitto, M. F., Cesconetto, P., ... Quevedo, J. (2011). Ketamine plus imipramine treatment induces antidepressant-like behavior and increases CREB and BDNF protein levels and PKA and PKC phosphorylation in rat brain. *Behavioural Brain Research*, 221, 166–171.
- Rogóz, Z., Skuza, G., Maj, J., & Danysz, W. (2002). Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology*, 42, 1024–1030.
- Rosner, M., Hanneder, M., Siegel, N., Valli, A., Fuchs, C., & Hengstschlager, M. (2008). The mTOR pathway and its role in human genetic diseases. *Mutation Research*, 659, 284–292.
- Ryazanov, A. G., Pavur, K. S., & Dorovkov, M. V. (1998). Alpha-kinases : a new class of protein kinases with a novel catalytic domain. *Current Biology*, 9, 43–45.
- Sheline, Y. I., Wang, P. W., Gado, M. H., Csernansky, J. G., & Vannier, M. W. (1996). Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 3908–3913.
- Silvestre, J. S., Nadal, R., Pallarés, M., & Ferré, N. (1997). Acute effects of ketamine in the holeboard, the elevated-plus maze, and the social interaction test in Wistar rats. *Depression and Anxiety*, 5, 29–33.
- Song, C., & Leonard, B. E. (2005). The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 627–647.
- Südhof, T. C. (2004). The synaptic vesicle cycle. *Annual Review of Neuroscience*, 27, 509–547.
- Sullivan, P. F., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American Journal of Psychiatry*, 157, 1552–1562.
- Tang, S. J., & Schuman, E. M. (2002). Protein synthesis in the dendrite. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences*, 357, 521–529.
- Tizabi, Y., Bhatti, B. H., Manaye, K. F., Das, J. R., & Akinfiresoye, L. (2012). Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar-Kyoto rats. *Neuroscience*, 213, 72–80.
- Trivedi, M. H., Rush, A. J., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Warden, D., Ritz, L., ... Team, S. S. (2006). Evaluation of outcomes with Citalopram for depression using measurement-based care in STAR * D: implications for clinical practice. *American Journal of Psychiatry*, 163, 28–40.

- Verona, M., Zanotti, S., Schäfer, T., Racagni, G., & Popoli, M. (2000). Changes of synaptotagmin interaction with t-SNARE proteins in vitro after calcium/calmodulin-dependent phosphorylation. *Journal of Neurochemistry*, *74*, 209–221.
- Wang, X., Yang, Y., Zhou, X., Wu, J., Li, J., Jiang, X., ... Zhou, S. (2011). Propofol pretreatment increases antidepressant-like effects induced by acute administration of ketamine in rats receiving forced swimming test. *Psychiatry Research*, *185*, 248–253.
- Willner, P., Muscat, R., & Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *16*, 525–534.
- Wolff, K., & Winstock, A. R. (2006). Ketamine: from medicine to misuse. *CNS drugs*, *20*, 199–218.
- Yang, C., Hu, Y.-M., Zhou, Z.-Q., Zhang, G.-F., & Yang, J.-J. (2013). Acute administration of ketamine in rats increases hippocampal BDNF and mTOR levels during forced swimming test. *Upsala Journal of Medical Sciences*, *118*, 3–8.
- Yang, C., Li, W.-Y., Yu, H.-Y., Gao, Z.-Q., Liu, X.-L., Zhou, Z.-Q., & Yang, J.-J. (2012). Tramadol pretreatment enhances ketamine-induced antidepressant effects and increases mammalian target of rapamycin in rat hippocampus and prefrontal cortex. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2012*, 1–6.
- Yoshihara, Y., De Roo, M., & Muller, D. (2009). Dendritic spine formation and stabilization. *Current Opinion in Neurobiology*, *19*, 146–153.
- Zarate Jr., C. A., Singh, J. B., Carlson, P. J., Brutsche, N. E., Ameli, R., Luckenbaugh, D. A., ... Manji, H. K. (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Archives of General Psychiatry*, *63*, 856–864.
- Zung, W. W. K., Richards, C. B., & Short, M. J. (1965). Self-rating depression scale in an outpatient clinic further validation of the SDS. *Archives of General Psychiatry*, *13*, 508–515.