



**Univerzita Karlova v Praze  
3. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce

**Histomorfologický, biochemický  
a behaviorální profil animálních  
modelů schizofrenie**

**Anna Kubešová**

Praha 2015

## **Doktorské studijní programy v biomedicíně**

*Univerzita Karlova v Praze  
a Akademie věd České republiky*

Studijní program, studijní obor: Neurovědy

Předseda oborové rady: Prof. MUDr. Karel Šonka, DrSc.

Školící pracoviště: Národní ústav duševního zdraví

Autor: MUDr. Anna Kubešová

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Horáček, Ph.D.

Oponenti: .....

.....

Autoreferát byl rozeslán dne: .....

Obhajoba se koná dne: .....v.....hod.

.....

S disertační prací je možno se seznámit na děkanátu  
3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

## **OBSAH**

SOUHRN .....	4
SUMMARY .....	5
STUDIE 1 .....	6
Úvod studie 1 .....	6
Hypotézy studie 1 .....	7
Metodika studie 1 .....	7
Výsledky studie 1 .....	9
Diskuze studie 1 .....	10
Závěr studie 1 .....	11
STUDIE 2 .....	11
Úvod studie 2 .....	11
Hypotézy studie 2 .....	12
Metodika studie 2 .....	12
Výsledky studie 2 .....	14
Diskuze studie 2 .....	15
Závěr studie 2 .....	15
STUDIE 3 .....	15
Úvod studie 3 .....	15
Hypotézy studie 3 .....	16
Metodika studie 3 .....	17
Výsledky studie 3 .....	19
Diskuze studie 3 .....	24
Závěr studie 3 .....	25
LITERATURA .....	25
SEZNAM PUBLIKACÍ DOKTORANDA .....	31

## SOUHRN

Předkládaná práce prezentuje výsledky 3 studií, které se zabývají histomorfologickými, biochemickými a behaviorálními odchylkami v neurovývojovém modelu schizofrenie a ve farmakologickém modelu schizofrenie navozeném podáním látek, které ovlivňují funkci serotonergního systému. Ve studii 1 jsme prokázali, že časná imunitní stimulace u potkanů v dospělosti vede ke změnám mozkových a plazmatických hladin neurotransmiterů a jejich metabolitů, k aktivaci kynureninové dráhy tryptofanového metabolismu, k hypertrofii astrocytů, snížení objemu hipokampu a poklesu tyrosinhydroxylázové imunoreaktivity v substantia nigra pars compacta. Nálezy této studie podporují hypotézu o významné patofyziologické úloze časné imunitní stimulace u schizofrenie a dalších neuropsychiatrických onemocněních. Ve studii 2 jsme verifikovali aplikaci tryptaminového (psilocin) a fenyletylaminového (mezkalin) halucinogenu jako fenomenologicky validní animální model schizofrenie. Podání testovaných látek vedlo k deficitu konektivity mozku měřené pomocí kvantitativního EEG. Tyto nálezy vykazují značnou podobnost s nálezy u nemocných schizofrenií. Ve studii 3 jsme v animálním modelu aplikací syntetické drogy 4-bromo-2,5-dimetoxyfenyletylaminu (2C-B) indukovali deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce a časově a dávkově bifázické změny lokomoce, kdy hypolokomoce byla následována hyperlokomocí. Nízké dávky 2C-B snižovaly v EEG experimentech výkon i koherenci, vysoké dávky měly dočasný bifázický efekt s počátečním poklesem následovaným zvýšením výkonu - obdobný účinek byl pozorován i u koherence. Pomocí mikrodialýzy jsme v nucleus accumbens dále prokázali zvýšení hladin dopaminu a jeho metabolitů kyseliny homovanilové a 3-metoxytyraminu a naopak snížení hladiny kyseliny 3,4-dihydroxyfenylactové. Zvýšení EEG výkonů a koherencí bylo po aplikaci 2C-B časově spojeno se zvýšením lokomoční aktivity a dopaminových hladin v nucleus accumbens.

## SUMMARY

The presented work introduces the results of 3 studies that deal with histomorphological, biochemical and behavioral abnormalities in the neurodevelopmental model of schizophrenia and in the pharmacological model of schizophrenia induced by the administration of substances that affect the serotonergic system. In the study No. 1 we demonstrated that the early immune stimulation in rats leads in adulthood to changes in the brain and plasma levels of neurotransmitters and their metabolites, activation of kynurenine pathway of tryptophan metabolism, hypertrophy of astrocytes, reduction of hippocampal volume and decrease of tyrosin-hydroxylase immunoreactivity in the substantia nigra pars compacta. The findings of this study support the hypothesis of an important pathophysiological role of the early immune stimulation in schizophrenia and other neuropsychiatric disorders. In the study No. 2 we verified the application of tryptamine (psilocin) and phenylethylamine (mescaline) hallucinogen as phenomenologically valid animal model of schizophrenia. Administration of the tested substances led to a deficit in the prepulse inhibition of the acoustic startle reaction and damage of the brain functional connectivity measured by quantitative EEG. These findings are very similar to the findings in patients with schizophrenia. In the study No. 3 the application of synthetic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenylethylamine (2C-B) induced in animal model deficit in the prepulse inhibition of the acoustic startle reaction and time- and dose related biphasic changes in the locomotion when the hypolocomotion was followed by the hyperlocomotion. Low doses of 2C-B reduced the EEG power and coherence, high doses had a temporary biphasic effect with an initial decline followed by an increase in power – a similar effect was also observed in the coherence. Using the microdialysis we also demonstrated increased levels of dopamine and its metabolites homovanilic acid and 3-methoxytyramine and decreased levels of 3,4-dihydroxyphenylacetic acid in the nucleus accumbens. The increase in the EEG power and coherence was after the 2C-B application time associated with the increase in the locomotion and dopamine levels in the nucleus accumbens.

## STUDIE 1

### **Biochemický, histopatologický a morfologický profil animálního modelu časně imunitní stimulace - vztah k psychopatologii**

#### *Úvod studie 1*

Negativní vlivy prostředí v průběhu intrauterinního a časněho postnatálního období zvyšují riziko rozvoje neuropsychiatrických onemocnění v dospělosti (Schmitt et al. 2014). V posledních letech se pozornost odborníků zaměřila na časnou imunitní stimulaci vyvolanou maternální nebo perinatální infekcí. Časná bakteriální imunitní stimulace byla v různých modelech indukovaná podáním endotoxinu lipopolysacharidu (LPS) (Wang et al. 2006), který je součástí vnější membrány Gram-negativních bakterií a má schopnost navodit imunitní odpověď (Spencer et al. 2011). V našich předchozích experimentech postnatální aplikace LPS vyvolávala u dospělého potkana schizofrenii podobné chování a zároveň zvyšovala hladiny cirkulujících cytokinů (Tejkalová et al. 2007; Tejkalová et al. 2008; Tejkalová et al. 2010). Schizofrenii podobné chování, stejně jako chování napodobující úzkost, autismus a deprese u dospělých zvířat po perinatální aplikaci LPS bylo popsáno i ve studiích dalších autorů (Kirsten et al. 2012; Sominsky et al. 2012; Sominsky et al. 2013; Doosti et al. 2013; Zhu et al. 2014).

Přestože spojitost perinatální imunitní aktivace s rozvojem řady neuropsychiatrických onemocnění byla již zdokumentována, o jejím vlivu na biochemické procesy v dospělém mozku je známo jen velmi málo. Histopatologické změny, které mohou být podkladem některých abnormalit v chování, byly sice zkoumány v různých studiích, avšak jejich nálezy byly protichůdné (Bilbo and Schwarz 2009; Fan et al. 2011b; Cai et al. 2013; Smith et al. 2014).

Naše studie si kladla za cíl objasnit vliv časně imunitní stimulace na biochemické a histopatologické změny v mozku dospělého potkana a jejich potenciální vztah k lidské psychopatologii. Hodnotili jsme mozkové a plasmatické hladiny vybraných neurotransmiterů a jejich metabolitů a tryptofanu a jeho metabolitů z kynureninové katabolické dráhy. Kromě toho jsme se zaměřili na histologické a morfologické markery, které mají vztah k patogenezi mozkových onemocnění, včetně schizofrenie - aktivace gliových buněk, neurodegenerace, objemová redukce hipokampu a dopaminergní syntéza v substantia nigra.

### ***Hypotézy studie 1***

1. Časná imunitní stimulace vyvolává v animálním modelu změny mozkových a plasmatických hladin neurotransmiterů a jejich metabolitů.
2. Časná imunitní stimulace vyvolává v animálním modelu aktivaci kynureninové cesty metabolismu tryptofanu.
3. Časná imunitní stimulace vede v animálním modelu k prodloužené aktivaci gliových buněk a k neurodegeneraci.
4. Časná imunitní stimulace způsobuje v animálním modelu v dospělosti objemové změny hipokampu.
5. Časná imunitní stimulace způsobuje v animálním modelu změny v dopaminergní syntéze.

### ***Metodika studie 1***

V experimentu byli použiti potkaní samci kmene Wistar. PD (postnatální den) 5-9 byla potkaní mláďata každý den zvážena a následně jim byl intraperitoneálně aplikován 2 mg/kg/den LPS (*Escherichia coli*, sérotyp 026:B6; Sigma-Aldrich) nebo stejný objem 0,9% NaCl.

PD 90-95 byli dospělí potkaní (n=19-24/skupina) dekapitováni. Jejich mozková tkáň (striatum, hipokampus a prefrontální kortex) a plasma byly okamžitě až do dalšího zpracování zmrazeny (-80°C). Dopamin (DA), kyselina homovanilová (HVA), 3-metoxytyramin (3-MT), kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová (DOPAC), serotonin (5-HT), kyselina 5-hydroxyindoloctová (5-HIAA), glutamát (GLU), kyselina  $\gamma$ -aminomáselná (GABA), tryptofan (TRP), kynurenin (KYN), kyselina kynureninová (KYNA), 3-hydroxykynurenin (3-OH-KYN) a kyselina chinolinová (QUIN) byly v tkáni a plasmě měřeny pomocí kapalinové chromatografie kombinované s elektrosprejovou ionizací-hmotnostní spektrometrie. Tato metoda je detailně popsána zde (Najmanova et al. 2011).

PD 93-97 byli potkaní (n=8/skupina) transkardiálně perfundováni, jejich mozky byly vyjmuty, fixovány a po kryoprotekci nakrájeny (40 $\mu$ m). Tkáňové řezy byly obarveny 0,1% Toluidinovou modří (Nisslovo barvení; Sigma-Aldrich). Ke zjištění objemu hipokampu jsme použili světelný mikroskop (Olympus BX51) a Cavalieriho princip v programu Stereo Investigator (MBF Bioscience). Analyzován byl každý 6. řez od začátku hipokampu až do konce oblasti CA3. Rozsah neurodegenerace jsme zjišťovali

pomocí markeru neurodegenerace Fluoro-Jade B (Millipore/Merck) a markeru buněčných jader Hoechst 33258 (Sigma-Aldrich) ve fluorescenčním mikroskopu (Zeiss Axio Imager Z1). Aktivace gliových buněk a počet dopaminergních buněk v SN byly zjišťovány imunohistochemicky pomocí následujících protilátek: polyklonální rabbit anti-Iba1 1:3000 (Wako Pure Chemical Industries) jako marker mikroglíí, polyklonální rabbit anti-GFAP 1:5000 (DAKO Denmark A/S) jako marker astrocytů a polyklonální rabbit anti-TH 1:2000 (Millipore/Merck KGaA) jako marker dopaminergní tvorby. Primární protilátky byly rozpoznány biotinylovanou sekundární protilátkou goat anti-rabbit IgG 1:300 (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.), která byla detekována pomocí Avidin-Peroxidázového kitu (Vectastain Elite kit standart, Vector Laboratories, Inc.) a 3,3'-diaminobenzidinu (Millipore/Merck KGaA). Kvantifikace Iba1 a GFAP imunoreaktivity byla provedena z mikroskopických fotografií pořízených v hipokampu a substantia nigra pomocí světelného mikroskopu (Zeiss Axio Imager Z1). U každého potkana byly vyfoceny 3 náhodně vybrané oblasti v obou strukturách v různých řezech (rozlíšení 40x). Pomocí programu ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>) bylo ve fotografiích vypočítáno procento oblastí obsahující imunoreaktivitu. Výsledky byly následně zprůměrovány pro každé zvíře a oblast a použity pro statistickou analýzu. Kvantifikace TH pozitivních buněk v substantia nigra pars compacta (SNpc) byla provedena s použitím světelného mikroskopu (Olympus BX51) a optického frakcionátoru v programu Stereo Investigator (MBF Bioscience). SNpc byla ohraničena při nízkém rozlišení (2x) a následně byl při vysokém rozlišení (60x) analyzován každý 6. řez od začátku do konce SNpc. K výpočtu byly použity následující proměnné: sampling grid 200x200 $\mu$ m, counting frame 75x75 $\mu$ m, disector height 8 $\mu$ m a guard zone 2 $\mu$ m.

Výsledky byly statisticky zhodnoceny v programu Statistica v.9.0 (Statsoft). Hladiny neurotransmiterů a metabolitů byly analyzovány pomocí dvouvýběrového T-testu. Na základě Bonferroniho korekce byla hladina významnosti stanovena jako  $p < 0,001$ . Výpočty korelace byly provedeny pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Váhy zvířat, Iba1 a GFAP imunoreaktivita, objem hipokampu a počet TH pozitivních buněk v SNpc byly analyzovány pomocí Mann-Whitneyho U-testu. Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ .



## ***Výsledky studie 1***

### **Biochemické nálezy**

Ve skupině LPS jsme ve všech měřených mozkových oblastech zaznamenali zvýšení hladin DOPAC, HVA, 5-HIAA a GLU a snížení hladin 5-HT a 3-MT v porovnání s kontrolní skupinou. Hladina DA byla v LPS skupině zvýšena ve striatu a prefrontálním kortexu a vykazovala zvyšující se trend v hipokampu. Naopak hladina GABA byla snížena v hipokampu a měla snižující se trend v prefrontálním kortexu.

Plasmatické hladiny DA a jeho metabolitů v LPS skupině následovaly mozkové hladiny s výjimkou 3-MT, který měl v plasmě na rozdíl od mozku zvýšenou hladinu. Aplikace LPS neměla žádný vliv na plasmatické hladiny 5-HT, avšak zjistili jsme zvyšující trend v plasmatických hladinách jeho metabolitu 5-HIAA. Plasmatické hladiny GLU i GABA byly v porovnání s kontrolní skupinou v LPS skupině zvýšené.

Hladiny TRP a metabolitů kynureninové dráhy byly v LPS skupině ve všech měřených oblastech v mozku i v plasmě zvýšené. Jedinou výjimkou byla KYNA, u které jsme nezaznamenali žádný vliv aplikace LPS.

### **Histopatologické a morfologické nálezy**

Mikroglie značené protilátkou proti Iba1 byly rozmístěny v celém mozku jak ve skupině LPS, tak i u kontrolních zvířat. V obou skupinách měly Iba1 pozitivní buňky oválné tělo a dlouhé tenké ramifikované výběžky. Hypertrofované mikroglie s atypickým tvarem těla a/nebo širšími výběžky, které představují přechodné stádium k aktivaci, se příležitostně objevovaly v obou testovaných skupinách. Procento oblasti Iba1 imunoreaktivity v hipokampu LPS skupiny ( $8,25 \pm 0,89\%$ ) se nelišilo od kontrolní skupiny ( $7,35 \pm 1,5\%$ ) [ $U(14)=26$ ;  $Z=-0,58$ ;  $p=0,56$ ]. Stejně tak jsme neobjevili žádný rozdíl v SN mezi LPS ( $9,23 \pm 1,1\%$ ) a kontrolní skupinou ( $8,46 \pm 1,37\%$ ) [ $U(14)=26$ ;  $Z=-0,58$ ;  $p=0,56$ ].

Astrocyty značené protilátkou proti GFAP byly rovněž rozmístěné v celém mozku v obou testovaných skupinách. Nicméně morfologická charakteristika GFAP pozitivních buněk byla odlišná ve skupině LPS (hypertrofické tělo a silnější výběžky) v porovnání se zvířaty z kontrolní skupiny. Přestože hypertrofované astroglie byly přítomné ve více regionech mozku (zejména v periventrikulární

oblasti, ale méně v mozkové kůře), nejvýraznější změny se nacházely v hipokampu (hilus gyrus dentatus, stratum lacunosum moleculare a stratum oriens) a v substantia nigra. Procento oblastí GFAP imunoreaktivity bylo v LPS skupině významně vyšší v porovnání s kontrolní skupinou v hipokampu ( $22,97 \pm 2,02\%$  vs.  $9,26 \pm 1,11\%$ ) [ $U(6)=0$ ;  $Z=-2,17$ ;  $p<0,05$ ] i v SN ( $8,75 \pm 1,85\%$  vs.  $3,25 \pm 0,56\%$ ) [ $U(6)=0$ ;  $Z=-2,17$ ;  $p<0,05$ ].

Objem hipokampu byl ve skupině LPS ( $33,9 \pm 1,4 \text{ mm}^3$ ) snížen v porovnání s kontrolní skupinou ( $37,6 \pm 0,9 \text{ mm}^3$ ) [ $U(14)=11,5$ ;  $Z=2,1$ ;  $p<0,05$ ]. Redukce hipokampálního objemu se pohybovala okolo 10%.

Snížen byl také počet TH pozitivních buněk v SNpc ve skupině LPS ( $23\ 172 \pm 2\ 438$ ) v porovnání s kontrolní skupinou ( $31\ 830 \pm 1\ 891$ ) [ $U(13)=9$ ;  $Z=2,14$ ;  $p<0,05$ ]. Redukce počtu TH pozitivních buněk se pohybovala okolo 27%.

V naší studii jsme nezaznamenali žádnou Fluoro-Jade B pozitivitu v mozcích dospělých potkanů. Stejně tak analýza buněčných jader neodhalila žádnou jadernou patologii, tedy například smršťení nebo fragmentaci jader. Skupina LPS se z tohoto hlediska nijak nelišila od kontrolní skupiny.

### ***Diskuze studie 1***

V této studii jsme potvrdili naši hypotézu, že v animálním modelu vyvolaném časnou imunitní stimulací dochází ke změnám mozkových a plasmatických hladin neurotransmiterů, které mají úlohu v patologii psychotických onemocnění. Dále dochází k aktivaci kynureninové cesty metabolismu tryptofanu projevující se jako zvýšení hladin kynureninu a metabolitů z inflamatorní části kynureninové dráhy. Toto zvýšení může být zprostředkováno enzymy, které jsou aktivovány prozánětlivými cytokiny (Campbell et al. 2014), jejichž elevace byla naší skupinou v tomto modelu popsána již dříve (Tejkalová et al. 2010). Perinatální expozice LPS vedla u dospělých zvířat v několika studiích k redukci počtu dopaminergních buněk v substantia nigra, která byla dávána do spojitosti s chronickou mikroglální aktivací v této oblasti (Fan et al. 2011a; Fan et al. 2011b; Cai et al. 2013). V naší studii jsme potvrdili snížení počtu dopaminergních buněk v substantia nigra, nicméně morfologie mikroglíi v celém mozku odpovídala klidovému stavu. Dospěli jsme tak k podobnému výsledku jako nedávná studie, která u

dospělých myší po perinatální expozici LPS nezjistila změny v mikrogliální denzitě a počtu mikroglíí v porovnání s kontrolní skupinou (Smith et al. 2014). Úbytek dopaminergních buněk může mít nicméně spojitost s přechodem astrocytů do reaktivního stavu, tak jak jsme popsali v substantia nigra a v hipokampu zvířat ze skupiny LPS, vzhledem k tomu, že astrocyty in vitro produkují neurotoxické molekuly jako NO, TNF $\alpha$  a reaktivní formy kyslíku (Carson et al. 2006). Jedním z nejzajímavějších nálezů naší studie je redukce hipokampálního objemu v dospělosti potkanů. Pokud je nám známo, tak naše studie je první, která tuto redukcii popisuje nikoliv pouze po intracerebrální injekci (Wang et al. 2013), ale po systémové postnatální aplikaci, která lépe napodobuje perinatální infekci. Redukce objemu hipokampu je spojená s celou řadou neuropsychiatrických onemocnění včetně schizofrenie (Laakso et al. 1996; Bremner et al. 2000; Brambilla et al. 2008; Woon et al. 2010; Haukvik et al. 2013) a může být podkladem kognitivního poškození u pacientů (Small et al. 2011).

### ***Závěr studie 1***

Naše výsledky podporují patogenetickou souvislost mezi časnou imunitní stimulací a neuropsychiatrickými onemocněními jako jsou schizofrenie, poruchy nálady, úzkostné poruchy, autismus a Parkinsonova a Alzheimerova choroba.

## **STUDIE 2**

### **Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzorimotorické zpracování informací - animální model psychózy**

#### ***Úvod studie 2***

Halucinogeny psilocin a mezkalin představují zástupce dvou velkých rodin psychedelik - tryptaminů a fenyletylaminů (Nichols 2004). Mechanismus účinku těchto látek spočívá v agonismu serotoninových 5-HT<sub>2A/C</sub> a v případě tryptaminů i 5-HT<sub>1A</sub> receptorů (Palenicek et al. 2008). Vzhledem k fenomenologické podobnosti účinků halucinogenů s příznaky psychóz u lidí může být aplikace těchto látek využívána jako serotoninový model schizofrenie (Vollenweider et al. 1998; Palenicek et al. 2008).

Cílem této studie bylo verifikovat účinky psilocinu a mezkalinu jako validní model schizofrenie pomocí testu prepulzní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR). Deficit v tomto testu v animálních i humánních modelech odráží poškození sensorimotorického zpracování informací, které se vyskytuje u pacientů se schizofrenií (Ludewig et al. 2002). Schizofrenie je mimo jiné charakterizována také poměrně konzistentními nálezy EEG, jako je nárůst pomalých aktivit v pásmu delta a deficit v pásmu gama (Gerez and Tello 1995; Begic et al. 2000). Popsáno je i snížení koherence EEG signálu zejména mezi frontálním a temporálním kortexem (Tauscher et al. 1998; Winterer et al. 2001), které je považováno za snížení funkční konektivity mezi těmito oblastmi. Druhým parametrem, který byl předmětem této studie, je tedy funkční konektivita mozku měřená pomocí kvantitativního EEG (qEEG).

### ***Hypotézy studie 2***

1. Aplikace halucinogenů psilocinu a mezkalinu vyvolává v animálním modelu deficit v testu prepulzní inhibice akustické úlekové reakce.
2. Aplikace halucinogenů psilocinu a mezkalinu vyvolává v animálním modelu deficit funkční konektivity mozku.

### ***Metodika studie 2***

V experimentu byli použiti dospělí potkaní samci kmene Wistar (n=10-14/skupina). Psilocin (THC-Pharm) v dávkách 0,25 mg/kg, 1 mg/kg a 4 mg/kg a mezkalin hydrochlorid (Farmaceutická fakulta UK) v dávkách 10 mg/kg, 20 mg/kg a 100 mg/kg byly naředěny v 0,9% NaCl a aplikovány subkutánně v objemu 2 ml/kg. Kontrolním zvířatům bylo podáno vehikulum. Psilocin byl aplikován 15 minut a mezkalin 60 minut před začátkem PPI experimentů. V EEG experimentu byly aplikovány pouze nejvyšší dávky a to 10 minut po začátku registrace.

Úleková reakce a prepulzní inhibice akustické úlekové reakce byly měřeny v testovacích boxech systému SRLAB (San Diego Instruments), kde byl umístěn vysokofrekvenční reproduktor, který produkoval kontinuální šum (75 dB) a další akustické stimuly. Samotný experiment začal pětiminutovou aklimatizační periodou a čtyřmi iniciačními úlekovými stimuly (125 dB), které nebyly

zahrnutý do výpočtu PPI. Poté byly použity následující intenzity stimulů v pseudonáhodném pořadí:

- 1) samotný pulz - 125 dB, trvání 20 ms
- 2) prepulz-pulz - 13 dB nad intenzitou pozadí, trvání 20 ms, prezentovaný 100 ms před začátkem samotného pulzu
- 3) samotný prepulz - 13 dB nad intenzitou pozadí, trvání 20 ms
- 4) žádní stimul

Každý podnět se opakoval v průběhu měření 5x s průměrným intervalem mezi jednotlivými podněty 30 s. PPI ASR byla vyjádřena jako procentuální podíl:

*100 - (průměrná ASR na prepulz-pulz podněty / ASR na samostatné pulzy) x 100*

Zvířata s průměrnou velikostí ASR menší než 10 mikroV byla označena jako non-respondéři a vyřazena z analýzy. Výsledky byly statisticky zhodnoceny v programu Sigmatat v. 3.0 pomocí jednocestné analýzy rozptylu (one-way ANOVA) s Newman-Keuls post hoc testem. Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ .

Stereotaktická implantace 14 stříbrných elektrod (12 aktivních + referenční + zemní) byla provedena v celkové isofluranové anestézii 7 dní před vlastní registrací EEG. Aktivní elektrody byly implantovány subdurálně nad homologními částmi obou hemisfér. Koordináty pro implantaci elektrod byly převzaty ze stereotaktického atlasu The Rat Brain (Paxinos and Watson 2007):

**F3/4** 5,0 mm A,  $\pm 2,0$  mm L od bregmy (frontální asociační kortex)

**C3/4** 2,2 mm A,  $\pm 3,2$  mm L od bregmy (primar. motorický kortex)

**P3/4** 3,8 mm P,  $\pm 2,5$  mm L od bregmy (parietální asociační kortex)

**P5/6** 4,5 mm P,  $\pm 4,5$  mm L od bregmy (parietální asociační kortex)

**T3/4** 3,6 mm P,  $\pm 7,2$  mm L od bregmy (spánkový asociační kortex)

**T5/6** 8,8 mm P,  $\pm 5,8$  mm L od bregmy (sekund. sluchový kortex)

Referenční elektroda (REF) byla implantována subdurálně nad čichový lalok a zemní elektroda byla umístěna subkutánně v okcipitální oblasti. Elektrody byly ke kalvě připevněny pomocí zubního cementu. Den před zahájením registrace byl k elektrodám v krátkodobé isofluranové anestézii připojen konektor k registračnímu setu. EEG záznam byl registrován pomocí zesilovače BrainScope (UniMedis) po dobu 100 minut. Testovaná látka byla potkanů aplikována po 10 minutovém klidovém záznamu. Během registrace se potkani mohli volně pohybovat. Spolu s registrací EEG bylo u

potkanů zaznamenáváno chování pomocí programu Activities - aktivní (běhání, chození, čištění) a pasivní (imobilita, čenichání bez pohybu těla, malé pohyby hlavou). Z analýzy byly vyřazeny všechny aktivní úseky a úseky spánku a buzení.

Pomocí programu WaveFinder (UniMedis) byly odděleny úseky aktivního a pasivního chování a následně byl signál odpovídající pasivním úsekům importován do softwaru Neuroguide v.2.4.6 (Applied Neuroscience Inc.). K vlastní analýze byly použity 2 úseky: kontrolní úsek před aplikací látky a úsek po aplikaci látky. Po rychlé Fourierově transformaci byla z každého analyzovaného úseku vypočítána spektra mezi 1 a 40 Hz s rozlišením 0,5 Hz: delta (1-4 Hz), theta (4-7 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (12-25 Hz), vysoká beta (25-30 Hz), gama (30-40 Hz). EEG koherence byly vypočítány pro 30 intrahemisferálních (F3-C3, F3-P3, F3-P5, F3-T3, F3-T5, C3-P3, C3-P5, C3-T3, C3-T5, P3-P5, P3-T3, P3-T5, P5-T3, P5-T5, T3-T5 na levé hemisféře a analogicky na pravé) a 6 interhemisferálních elektrodoových párů (F3-F4, C3-C4, P3-P4, P5-P6, T3-T4, T5-T6). Výsledky byly statisticky zhodnoceny v programu Sigmastat v. 3.0 pomocí párového T-testu (úsek záznamu před aplikací látky vs. úsek 20-30 minut po aplikaci látky). Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ .

## ***Výsledky studie 2***

### **Prepulzní inhibice akustické úlekové reakce**

One-way ANOVA ukázala signifikantní rozdíl mezi aplikací vehikula a psilocinu ( $F(3,41)=3,137$ ;  $p < 0,05$ ) v testu PPI ASR, nicméně dle post hoc testu pouze psilocin v dávce 1 mg/kg narušoval PPI. Také mezkalin způsoboval signifikantní deficit PPI ( $F(3,51)=4,198$ ;  $p < 0,01$ ) a to dle post hoc testu ve všech testovaných dávkách.

### **EEG spektra a koherence**

Psilocin i mezkalin snižovaly průměrný výkon v téměř celém frekvenčním rozsahu. Nejvýznamnější pokles byl u psilocinu zaznamenán v pásmu theta, zatímco u mezkalinu v pásmu delta. Aplikace mezkalinu na rozdíl od psilocinu neindukovala snížení výkonu v pásmu alfa.

Psilocin signifikantně snižoval koherence ve všech frekvenčních pásmech - intra- i interhemisféralně. Nejpatrnější byly změny v

pásmech delta a theta, v ostatních pásmech byly změny méně významné s převažujícími změnami v interhemisferálních koherencích. Mezkalin indukoval podobné změny jako psilocin, nicméně v pásmu theta byly změny méně výrazné. Mezkalin navíc snižoval intrahemisferální koherence v pásmech beta a gama.

### ***Diskuze studie 2***

Deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce vyvolaný podáním halucinogenů psilocinu a mezkalinu byl popsán u halucinogenů již dříve (Vollenweider et al. 1998; Palenicek et al. 2008). Tento behaviorální znak, který je pravděpodobně zprostředkovaný agonismem na 5-HT<sub>2A</sub> receptoru (Marek and Aghajanian 1996; Nichols 2004), se vyskytuje i u pacientů se schizofrenií a lze tak hovořit o fenomenologické validitě tohoto modelu. Mezkalin v naší studii narušoval prepulzní inhibici poněkud výrazněji než psilocin. Možné však je, že námi zvolené dávky psilocinu byly příliš nízké, nebo že časový interval nahrávání neodpovídal době, kdy psilocin dosahuje nejvyšších hladin v mozku. Dalším znakem podporujícím validitu tohoto serotoninového modelu schizofrenie jsou změny v EEG výkonových spektrech, zejména snížení výkonu v pásmu gama (Williams and Boksa 2010), a snížení frontotemporální konektivity. Tyto znaky jsou u nemocných asociovány s kognitivním poškozením a deficitem ve zpracování informací (Gonzalez-Burgos et al. 2010; Gandal et al. 2012).

### ***Závěr studie 2***

Námi vytvořené serotoninové modely vykazují významnou podobnost s nálezy u pacientů se schizofrenií. Domníváme se, že by tyto modely mohly do budoucna mít i významnou prediktivní validitu pro testování účinků antipsychotik.

## **STUDIE 3**

### **Behaviorální, neurochemický a EEG profil psychedelické drogy 4-bromo-2,5-dimetyloxyfenyletylaminu (2C-B) u potkana**

#### ***Úvod studie 3***

2C-B patří do skupiny tzv. 2C fenyletylaminových derivátů, u kterých byly popsány psychedelické a entaktogenní účinky na

člověka (Shulgin and Carter 1975). Vazebné studie popisují 2C-B jako agonistu serotoninových 5-HT<sub>2C</sub> a parciálního agonistu nebo dokonce antagonistu 5-HT<sub>2A</sub> receptorů (Acuna-Castillo et al. 2002; Villalobos et al. 2004; Moya et al. 2007). Ačkoliv je tato látka - podobně jako entaktogen MDMA (3,4-metylendioxy-N-metylamfetamin) známý pod slangovým označením *Extáze* - příležitostně užívána jako rekreační droga (de Boer and Bosman 2004; Caudevilla-Galligo et al. 2012), ve vědecké literatuře chybí dostatek informací o jejím mechanismu účinku a vlivu na chování.

Vzhledem k výše uvedenému bylo cílem naší práce popsat účinky aplikace 2C-B v animálním modelu. V behaviorální části studie jsme se zaměřili na lokomoční aktivitu a prepulzní inhibici akustické úlekové reakce. Oba tyto parametry chování jsou typicky poškozené po aplikaci / požití psychedelik nebo entaktogenů (Krebs-Thomson et al. 1998; Bubenikova et al. 2005). Dále jsme provedli kvantitativní analýzu EEG (EEG spektra a koherence) - tato metoda odráží funkční konektivitu mozku a představuje tak nový přístup k hodnocení psychoaktivních látek (Shaw et al. 1978; Thatcher et al. 1986). Hladiny dopaminu, který je klíčový pro adiktivní potenciál, stimulační účinky a regulaci senzomotorického zpracování informací (Geyer et al. 2001; Lingford-Hughes and Nutt 2003), a jeho metabolitů jsme v našem experimentu měřili pomocí mikrodialýzy v nucleus accumbens (NAc). Amfetamin, psychostimulant strukturou podobný 2C-B, v tomto pokusu sloužil jako referenční látka, která umožnila rozlišit entaktogenní a/nebo halucinogenní účinky (aktivace serotonergního systému) od potenciálních stimulačních účinků (aktivace dopaminergního systému).

### ***Hypotézy studie 3***

1. Aplikace 2C-B vede v animálním modelu k lokomočním změnám v testu otevřeného pole.
2. Aplikace 2C-B vyvolává v animálním modelu deficit v testu prepulzní inhibice akustické úlekové reakce
3. Aplikace 2C-B vyvolává v animálním modelu deficit ve funkční konektivité mozku.
4. Aplikace 2C-B ovlivňuje v animálním modelu metabolismus dopaminu.



### **Metodika studie 3**

V experimentu byli použiti dospělí potkaní samci kmene Wistar. 2C-B hydrochlorid (Farmaceutická fakulta UK) byl naředěn v 0,9% NaCl a aplikován subkutánně v objemu 2 ml/kg. Jako kontrolní látka bylo použito vehikulum. V behaviorálních experimentech byly použity 4 dávky 2C-B: 2,5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg, které byly aplikovány 15 (začátek působení látky) nebo 60 (nejvyšší mozková koncentrace) minut před začátkem měření. V EEG experimentech byly použity dávky 10 mg/kg a 50 mg/kg a pro mikrodialýzu pouze dávka 25 mg/kg. Amfetamin sulfát (Sigma-Aldrich) byl naředěn v 0,9% NaCl a aplikován subkutánně v objemu 2 ml/kg a dávce 1 mg/kg nebo 4 mg/kg. V behaviorálních experimentech byl amfetamin aplikován 15 minut před začátkem měření. V EEG experimentech byla použita pouze vyšší dávka.

Lokomoční aktivita (délka trajektorie) a její prostorová charakteristika (thigmotaxe a čas strávený v centru arény) v novém prostředí byly měřeny a analyzovány automatickým nahrávacím systémem EthoVision Color Pro v. 3.1.1.1 (Noldus). Černá čtvercová plastická aréna (68 x 68 x 30 cm) byla umístěna ve zvukotěsné a rovnoměrně osvětlené místnosti. Potkaní byli umístěni doprostřed arény 15 nebo 60 minut po aplikaci látky a lokomoční aktivita byla registrována následujících 30 minut. Aréna byla virtuálně rozdělena na 5 x 5 stejně velkých čtverců, z nichž 16 bylo periferních a 9 centrálních. Program spočítal frekvenci ( $f$ ) vstupu potkana do každé zóny. Thigmotaxe ( $i$ ) byla následně vypočítána podle vzorce:

$$i = f_{\text{periferní zóny}} / f_{\text{všechny zóny}}$$

Thigmotaxe nabývá hodnoty od 0 do 1 a ukazuje pravděpodobnost výskytu potkana v periferní zóně arény. Komplementárním parametrem je čas strávený v centru arény ( $T_{\text{centre}}$ ), který je vypočítán jako součet času strávený v devíti centrálních zónách.

Senzorimotorické zpracování informací bylo měřeno pomocí testu prepulzní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR), který je podrobně popsán v kapitole Metodika studie 2.

Výsledky behaviorálních experimentů byly zpracovány ve statistickém programu Sigmastat v. 3.0. Celková lokomoce a PPI ASR byly analyzovány pomocí dvoucestné analýzy rozptylu (two-way ANOVA), kde dávka 2C-B byla jedním a čas po aplikaci látky

druhým faktorem. Lokomoce v pětiminutových intervalech byla hodnocena pomocí dvojcenné RM (repeated measures) analýzy rozptylu (ANOVA), kde dávka 2C-B byla faktor mezi subjekty a časový interval faktor opakovaného měření. K analýze behaviorálních změn vyvolaných amfetaminem byla použita jednocestná analýza rozptylu (one-way ANOVA). Všechny analýzy byly následovány Newman-Keuls post hoc testem. Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ .

Stereotaktická implantace elektrod, registrace EEG záznamu a následná analýza jsou podrobně popsány v kapitole Metodika studie 2. Celková délka registrace EEG se v této studii lišila: 2C-B skupiny byly nahrávány 75 minut a amfetaminová skupina 45 minut. Testovaná látka byla aplikována v 10. minutě záznamu. K vlastní analýze EEG signálu byly použity následující úseky:

- 1) 0-10 minut (2C-B, amfetamin a vehikulum)
- 2) 25-35 minut (2C-B a vehikulum), 20-30 minut (amfetamin)
- 3) 35-45 minut (amfetamin a vehikulum)
- 4) 65-75 minut (2C-B a vehikulum)

V EEG experimentech každé zvíře sloužilo samo sobě jako kontrola. Data z prvních 10 minut záznamu (před aplikací látky) byla porovnáována s daty z dalších analyzovaných úseků (po aplikaci látky). Výsledky byly statisticky zhodnoceny v programech Neuroguide v. 2.4.6 (Applied Neuroscience Inc.) a Sigmastat v. 3.0. Výkonná spektra pro každé spektrální pásmo byla analyzována pomocí jednosměrné RM analýzy rozptylu (one-way RM ANOVA) s následným Newman-Keuls post hoc testem. Průměrný výkon byl vypočítán z individuálních hodnot jednotlivých elektrod u každého zvířete. EEG koherence byly analyzovány pomocí párového T testu. Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ . Family-wise error (FWE) a Bonferroniho korekce snížily hladinu významnosti na  $p < 0,015$ .

Kanyla pro mikrodialyzační experimenty byla potkanům zavedena v celkové isofluranové anestézii 7 dní před vlastní mikrodialýzou. Koordináty pro zavedení kanyly byly převzaty ze stereotaktického atlasu (Paxinos and Watson 2007):

NAc *shell* A 1,2 mm, L 2,0 mm, V -6,0 mm od bregmy

NAc *core* A 2,0 mm, L 1,2 mm, V -6,2 mm od bregmy

Dialyzační proby byly do kanyl zavedeny v mírné isofluranové anestézii. Proby byly následně spojeny s injekčními pumpami a

perfundovány umělou cerebrospinální tekutinou rychlostí 2 $\mu$ l/min. Po 60 minutách proplachování byly dialyzáty sbírány v dvacetiminutových intervalech do plastických vialek obsahujících 15  $\mu$ l 0,1 M HCl, která zabraňuje dekompozici analytů. Bazální hladina dopaminu a jeho metabolitů byla stanovena z 3 vzorků, které byly odebrány před aplikací látky. Po aplikaci látky bylo odebráno k analýze dalších 12 vzorků. Po skončení odběru vzorků byli potkani předávkováni isofluranovou anestézií, jejich mozky byly odebrány, fixovány a nakrájeny (40  $\mu$ m). Pomocí Nisslova barvení byla ve světelném mikroskopu (Zeiss Axio Imager Z1) ověřena poloha dialyzačních prob. K stanovení hladin dopaminu a jeho metabolitů v NAc *core* byli po této verifikaci použiti 4 potkani a v NAc *shell* 5 potkanů. Ostatní potkani byli z analýzy vyřazeni. Dopamin a jeho metabolity kyselina homovanilová (HVA), 3-metoxytyramin (3-MT) a kyselina 3,4-dihydroxyfenyloctová (DOPAC) byli ve vzorcích měřeny pomocí kapalinové chromatografie-hmotnostní spektrometrie (LC-MS), která je detailně popsána jinde (Syslova et al. 2011). Vzhledem k nízkým počtům zvířat ve skupinách NAc *shell* a NAc *core* byly skupiny spojeny a analyzovány společně. Výsledky byly zpracovány v programu Statistica v. 9.0 (Statsoft) pomocí Friedmanovy RM analýzy rozptylu (RM ANOVA) s následným Wilcoxonovým párovým testem. Jako faktor opakovaného měření byl použit čas odebrání vzorku. Hladina významnosti byla stanovena jako  $p < 0,05$ .

### ***Výsledky studie 3***

#### **Lokomoce**

Two-way ANOVA odhalila interakci mezi faktory dávka a čas po aplikaci 2C-B ( $F(4,89)=8,15$ ;  $p < 0,001$ ). Čas po aplikaci měl efekt na celkovou lokomoci ( $F(1,89)=20,24$ ;  $p < 0,001$ ), nicméně dávka ne ( $F(4,89)=0,23$ ;  $p=0,92$ ). Post hoc analýza ukázala, že aplikace 2C-B 15 minut před měřením vedla ke snížení celkové lokomoce po dávce 25 mg/kg ( $p < 0,05$ ), klesající trend byl přítomen i po dávce 50 mg/kg ( $p=0,06$ ). Ostatní dávky se v tomto časovém intervalu nelišily od kontrolní skupiny. Na druhou stranu, aplikace 2C-B 60 minut před měřením zvyšovala lokomoci po dávce 25 mg/kg ( $p < 0,01$ ), zatímco ostatní dávky se nelišily od kontrolní skupiny. Porovnání obou časových designů ukázalo významně delší trajektorii 60 minut po aplikaci vyšších dávek 2C-B ( $p < 0,05$  -  $p < 0,001$ ).

Analýza pětiminutových intervalů u potkanů s aplikací 2C-B 15 minut před experimentem (two-way RM ANOVA) zjistila interakci mezi faktory dávka a časový interval ( $F(20,225)=14,13$ ;  $p<0,001$ ) a stejně tak významný efekt dávky ( $F(4,225)=4,26$ ;  $p<0,01$ ) i časového intervalu ( $F(5,225)=30,32$ ;  $p<0,001$ ). Post hoc testy časového efektu ukázaly, že aplikace vehikula a 2C-B v dávce 2,5 mg/kg vedla k významnému zkracování lokomoce ve všech následujících časových intervalech v porovnání s prvním (0-5 min;  $p<0,001$  pro všechny intervaly) a stejně tak druhým intervalem (5-10 min;  $p<0,01$  -  $p<0,001$ ). Po aplikaci vehikula se totéž ukázalo i u třetího intervalu (10-15 min) v porovnání s následujícími ( $p<0,01$ ). Lokomoce v pětiminutových intervalech byla u všech dalších dávek 2C-B téměř konstantní. Post hoc testy ukázaly, že během prvních dvou časových intervalů 2C-B v dávce 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg významně zkracovalo trajektorii v porovnání s kontrolní skupinou ( $p<0,01$  -  $p<0,001$ ).

Analýza pětiminutových intervalů u potkanů s aplikací 2C-B 60 minut před experimentem (two-way RM ANOVA) také zjistila interakci mezi faktory dávka a časový interval ( $F(20,220)=3,54$ ;  $p<0,001$ ) a stejně tak významný efekt dávky ( $F(4,220)=4,14$ ;  $p<0,01$ ) i časového intervalu ( $F(5,220)=103,07$ ;  $p<0,001$ ). Podobně jako ve skupině aplikace 15 minut před experimentem, tak i v této dle post hoc testů vedla aplikace vehikula a 2C-B v dávce 2,5 mg/kg k postupnému zkracování lokomoce během druhého a třetího pětiminutového intervalu ( $p<0,05$  -  $p<0,001$ ). U vyšších dávek 2C-B docházelo na rozdíl od skupiny potkanů aplikovaných 15 minut před experimentem také ke zkracování lokomoce, ale méně výraznému než v nejnižší dávce ( $p<0,05$  -  $p < 0,001$  v porovnání k prvním dvěma intervalům). Post hoc testy ukázaly, že od třetího intervalu až do konce měření 2C-B v dávce 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg významně prodlužovalo trajektorii v porovnání s kontrolní skupinou ( $p<0,05$  -  $p<0,001$ ).

One-way ANOVA ukázala významný vliv dávky amfetaminu na lokomoci ( $F(2,28)=8,72$ ;  $p<0,001$ ). Dle post hoc testu obě dávky amfetaminu prodlužovaly trajektorii v porovnání s kontrolní skupinou ( $p<0,01$  -  $p < 0,001$ ).

### Thigmotaxe (i) a čas strávený v centru arény (Tcentre)

Two-way ANOVA neodhalila žádnou interakci mezi faktory ( $F(4,89)=1,42$ ;  $p=0,23$ ), ani žádný vliv dávky 2C-B ( $F(4,89)=0,99$ ;  $p=0,42$ ) nebo času po aplikaci látky ( $F(1,89)=2,27$ ;  $p=0,14$ ) na thigmotaxi.

Nicméně two-way ANOVA zjistila interakci mezi faktory ( $F(4,89)=3,36$ ;  $p<0,05$ ) a vliv dávky 2C-B ( $F(4,89)=3,88$ ;  $p<0,01$ ) na čas strávený v centru arény. Vliv času po aplikaci látky nebyl významný ( $F(1,89)=2,17$ ;  $p=0,14$ ). Post hoc testy ukázaly, že dávka 50 mg/kg aplikovaná 15 minut před měřením zvyšovala čas strávený v centru arény (vehikulum 68,8 s vs. 2C-B 282,4 s;  $p<0,001$ ). Aplikace 2C-B 60 minut před měřením nevedla v porovnání s kontrolní skupinou k žádné změně.

### Akustická úleková reakce a prepulzní inhibice

Two-way ANOVA odhalila vliv dávky 2C-B ( $F(4,90)=6,22$ ;  $p<0,001$ ) a času po aplikaci ( $F(1,90)=11,14$ ;  $p<0,001$ ) na ASR, nicméně nezjistila žádnou interakci faktorů ( $F(1,90)=0,77$ ;  $p=0,55$ ). Post hoc test ukázal, že 2C-B významně snižuje úlekovou reakci u zvířat 15 i 60 minut po aplikaci ( $p<0,05$  -  $p<0,01$  s výjimkou skupiny 2C-B 50 mg/kg testované 60 minut po aplikaci). Efekt byl výraznější ve skupině 15 minut po aplikaci.

Two-way ANOVA dále ukázala vliv dávky 2C-B na PPI ( $F(4,90)=7,86$ ;  $p<0,001$ ), ale nikoliv vliv času po aplikaci látky ( $F(1,90)=0,027$ ;  $p=0,87$ ) ani žádnou interakci faktorů ( $F(4,90)=0,87$ ;  $p=0,48$ ). Dle post hoc testu se od kontrolní skupiny výrazně lišila zvířata s dávkami 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg s aplikací 15 minut před měřením ( $p<0,05$  -  $p<0,001$ ). Ve skupině s aplikací 60 minut před měřením se výrazně od kontrolní skupiny lišila zvířata s dávkami 2,5 mg/kg, 10 mg/kg a 50 mg/kg ( $p<0,05$  -  $p<0,01$ ), zatímco ve skupině s dávkou 25 mg/kg byl pozorován pouze trend ( $p=0,06$ ).

V případě amfetaminu one-way ANOVA prokázala významné snížení ASR ( $F(2,27)=4,75$ ;  $p<0,05$ ), nicméně pouze u dávky 4 mg/kg byl tento výsledek signifikantní ( $p<0,05$ ). Stejně tak je poškozena i PPI ( $F(2,27)=3,94$ ;  $p<0,05$ ), ale opět pouze u dávky 4 mg/kg ( $p<0,05$ ).

### Hladiny dopaminu a jeho metabolitů v mikrodialyzátu

Friedmanova RM ANOVA zjistila vliv aplikace 2C-B na hladiny dopaminu a všech jeho metabolitů ( $X_2=99,3$  (dopamin), 108,8 (DOPAC), 65,5 (HVA), 113,6 (3-MT)),  $sv=14$ ,  $p<0,001$  pro všechny monoaminy).

2C-B v dávce 25 mg/kg významně zvýšilo hladiny dopaminu v obou sledovaných kompartmentech NAc (až 4,5x více v porovnání s bazální hodnotou;  $p<0,05$  -  $p<0,001$ ). Zvýšení hladin dopaminu v dialyzátu přetrvalo 120 minut po aplikaci látky. Podobné změny byly pozorovány i u metabolitů dopaminu HVA (až 6x více v porovnání s bazální hodnotou;  $p<0,05$  -  $p<0,001$ ) a 3-MT (až 7x více v porovnání s bazální hodnotou;  $p<0,05$  -  $p<0,001$ ). Naopak hladiny DOPAC poklesly na 38% bazální hodnoty v NAc core a 25% v NAc shell.

### EEG spektra

One-way RM ANOVA odhalila vliv 2C-B 10 mg/kg na průměrný výkon v pásmu beta ( $F(2,16)=4,96$ ;  $p<0,05$ ), vysoká beta ( $F(2,16)=9,63$ ;  $p<0,01$ ) a gama ( $F(2,16)=16,81$ ;  $p<0,001$ ). Dle post hoc testu došlo k významnému snížení výkonu v pásmech beta, vysoká beta a gama ( $p<0,05$  -  $p<0,001$ ). Tento efekt se objevil téměř nad všemi elektrodami obou hemisfér v počáteční fázi působení látky (15-25 minut po aplikaci) i později (55-65 minut po aplikaci).

2C-B 50 mg/kg mělo vliv na průměrný výkon v pásmech theta ( $F(2,14)=4,44$ ,  $p<0,05$ ), beta ( $F(2,14)=6,24$ ;  $p<0,05$ ), vysoká beta ( $F(2,14)=6,74$ ;  $p<0,01$ ) a gama ( $F(2,14)=4,97$ ;  $p<0,05$ ). Post hoc test zjistil, že v počáteční fázi působení látky (15-25 minut po aplikaci) došlo k významnému poklesu výkonu až na 76,3% bazální hodnoty v pásmech beta, vysoká beta a gama ( $p<0,05$  -  $p<0,01$ ), zatímco v pozdější fázi (55-65 minut po aplikaci) byl významný pokles výkonu pouze v pásmu vysoká beta ( $p<0,05$ ) a naopak zvýšení v pásmu theta ( $p<0,05$ ). Změny výkonu (zvýšení či snížení) byly přítomné téměř nad všemi elektrodami obou hemisfér.

Amfetamin 4 mg/kg měl vliv na výkon v pásmech theta ( $F(2,18)=6,66$ ;  $p<0,01$ ), alfa ( $F(2,18)=4,58$ ;  $p<0,05$ ) a beta ( $F(2,18)=4,03$ ;  $p<0,05$ ). Dle post hoc testu, v počáteční fázi působení látky (10-20 minut po aplikaci) amfetamin významně zvýšil průměrný výkon v pásmech theta ( $p<0,01$ ) a alfa ( $p<0,05$ ). Toto zvýšení přetrvalo v obou pásmech ( $p<0,05$ ) i v pozdější fázi (25-35 minut po aplikaci). Zároveň se objevilo snížení výkonu v pásmu beta

( $p < 0,05$ ). Nejvýrazněji se zvýšení výkonu projevilo nad parietálními elektrodami obou hemisfér, zatímco snížení v pásmu beta nad parietálními a frontálními elektrodami.

Aplikace vehikula vedla ke změnám výkonu v pásmech vysoká beta ( $F(3,27)=5,07$ ;  $p < 0,01$ ) a gama ( $F(3,27)=4,57$ ;  $p=0,01$ ). Post hoc test ukázal, že nedošlo k žádným významným změnám v časných fázích (15-25 minut a 25-35 minut po aplikaci), nicméně později (55-65 minut po aplikaci) poklesl průměrný výkon v pásmech vysoká beta a gama ( $p < 0,01$ ). Pokles v pásmu beta byl konkrétně pozorován nad frontálními a parietálními elektrodami, kdežto v pásmu gama nad všemi elektrodami.

### EEG koherence

Aplikace 2C-B 10 mg/kg vyvolala pokles koherencí ve všech frekvenčních pásmech. Během počáteční fáze (15-25 minut po aplikaci) byl nejvýraznější pokles pozorován v interhemisferálních temporálních koherencích a intrahemisferálních parieto-temporálních a fronto-temporálních koherencích. V pásmech beta, vysoká beta a gama došlo také k poklesu inter- a intrahemisferálních koherencích frontálně. V pozdější fázi (55-65 minut po aplikaci) tento trend pokračoval. Navíc poklesly interhemisferální temporální a parietální koherence a intrahemisferální parieto-temporální a fronto-temporální koherence.

Aplikace 2C-B v dávce 50 mg/kg indukovala pokles i vzestup koherencí mezi elektrodami. Během počáteční fáze (15-25 minut po aplikaci) došlo k poklesu frontálních, temporálních a parietálních interhemisferálních koherencí v pásmech delta, theta, alfa a nejvýrazněji v pásmu beta. Ve vyšších frekvenčních pásmech (beta a vyšší) došlo k dominantnímu zvýšení intrahemisferálních fronto-temporálních a fronto-parietálních koherencí. V pozdější fázi (55-65 minut po aplikaci) se objevovaly podobné změny. Pokles v temporálních interhemisferálních koherencích pokračoval, avšak v pásmu beta se objevovalo méně změn. Vzestup intrahemisferálních fronto-parietálních koherencí byl méně významný a posunul se také do nižších spekter (theta a alfa).

Aplikace amfetaminu v dávce 4 mg/kg v časné fázi (10-20 minut po aplikaci) globálně zvyšovala koherence v pásmech theta a alfa. Zvýšení bylo také patrné v pásmech beta, vysoká beta a gama. Malá snížení se vyskytovala pouze v pásmech delta, beta a gama. V

pozdější fázi (25-35 minut po aplikaci) byl směr změn podobný v pásmech delta, theta, alfa a gama, ovšem v pásmech beta a vysoká beta došlo k výraznému poklesu koherencí.

Aplikace vehikula vyvolala pouze mírné změny koherencí v časných fázích (15-25 minut a 25-35 minut po aplikaci). Jednalo se zejména o zvýšení intrahemisferálních fronto-temporálních koherencí v pásmech delta a theta. Byl pozorován také pokles koherencí v pásmech vysoká beta a gama, zejména 25-35 minut po aplikaci. V pozdější fázi (55-65 minut) se objevil vzestup interhemisferálních temporálních koherencí v pásmu delta a pokles koherencí v pásmech alfa, beta a vysoká beta. Jednalo se o interhemisferální frontální, parietální a temporální koherence a intrahemisferální fronto-temporální a fronto-parietální koherence. Malé poklesy byly pozorovány také v pásmech theta a gama.

### ***Diskuze studie 3***

Časově a dávkově bifázický účinek 2C-B na lokomoci (hypolokomoce následovaná hyperlokomocí) byl popsán i u dalších halucinogenů (Geyer et al. 1979; Krebs-Thomson et al. 1998; Palenicek et al. 2010). Hyperlokomoce v této studii navíc korelovala s výdejem dopaminu a předpokládanou maximální koncentrací 2C-B v mozku (Rohanova et al. 2008). V souladu s naším očekáváním byl také deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce, který je typický pro látky ovlivňující serotonergní a dopaminergní systém (Swerdlow et al. 2003; Bubenikova et al. 2005; Palenicek et al. 2008). Zvýšení výdeje dopaminu v nucleus accumbens po aplikaci 2C-B ukazuje na pravděpodobné zapojení této struktury do pozorovaných behaviorálních změn. Naopak pokles hladiny metabolitu DOPAC je odrazem možného inhibičního vlivu 2C-B na enzym monoaminoxidáza. Maximální výdej dopaminu navíc u vyšší dávky 2C-B časově koreloval se zvýšením EEG výkonu v pásmu theta. Tzv. theta/alfa peak byl popsán i po aplikaci amfetaminu a nejspíš odráží zvýšenou lokomoční aktivitu (Young 1988) nebo bdělost zvířat (Ambrosini et al. 1994). S výjimkou theta/alfa peaku docházelo spíše k celkovému poklesu EEG výkonu, který je charakteristický pro látky se serotonergním mechanismem účinku (Dimpfel et al. 1988; Dimpfel et al. 1989; Tyls et al. 2011; Fujakova et al. 2011). Zajímavým nálezem bylo snížení EEG konektivity v nižších dávkách, obdobně jako u jiných serotonergních



halucinogenů (Tyls et al. 2011; Fujakova et al. 2011), a naopak zvýšení EEG konektivity ve vyšších dávkách, které je pravděpodobně odrazem zvýšené behaviorální aktivity a výdeje dopaminu (Maloney et al. 1997; Palenicek et al. 2011a; Palenicek et al. 2011b).

### ***Závěr studie 3***

2C-B je účinná centrálně aktivní látka, která vyvolává behaviorální, neurochemické a elektrofyziologické změny srovnatelné s účinky dalších halucinogenů, ale také entaktogenů a psychostimulantů. Tato látka má časově a dávkově závislý bifázický mechanismus účinku, který je pravděpodobně spojen s rozdíly v časovém zapojení serotonergního a dopaminergního systému.

## **LITERATURA**

- Acuna-Castillo,C, Villalobos,C, Moya,PR, Saez,P, Cassels,BK, Huidobro-Toro,JP. Differences in potency and efficacy of a series of phenylisopropylamine/phenylethylamine pairs at 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptors. *Br. J. Pharmacol.* 2002;136: 510-519.
- Ambrosini,MV, Gambelunghe,C, Mariucci,G, Bruschielli,G, Adami,M, Giuditta,A. Sleep-wake variables and EEG power spectra in Mongolian gerbils and Wistar rats. *Physiol Behav* 1994;56: 963-968.
- Begic,D, Hotujac,L, Jokic-Begic,N. Quantitative EEG in 'positive' and 'negative' schizophrenia. *Acta Psychiatr. Scand.* 2000;101: 307-311.
- Bilbo,SD, Schwarz,JM. Early-life programming of later-life brain and behavior: a critical role for the immune system. *Front Behav. Neurosci.* 2009;3: 14.
- Brambilla,P, Hatch,JP, Soares,JC. Limbic changes identified by imaging in bipolar patients. *Curr. Psychiatry Rep.* 2008;10: 505-509.
- Bremner,JD, Narayan,M, Anderson,ER, Staib,LH, Miller,HL, Charney,DS. Hippocampal volume reduction in major depression. *Am. J. Psychiatry* 2000;157: 115-118.
- Bubenikova,V, Votava,M, Horacek,J, Palenicek,T. Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ecstasy (MDMA). *Behav Pharmacol* 2005;16: 127-130.
- Cai,Z, Fan,LW, Kaizaki,A, Tien,LT, Ma,T, Pang,Y, Lin,S, Lin,RC, Simpson,KL. Neonatal systemic exposure to lipopolysaccharide enhances susceptibility of nigrostriatal dopaminergic neurons to rotenone neurotoxicity in later life. *Dev. Neurosci.* 2013;35: 155-171.

- Campbell,BM, Charych,E, Lee,AW, Moller,T. Kynurenines in CNS disease: regulation by inflammatory cytokines. *Front Neurosci.* 2014;8: 12.
- Carson,MJ, Thrash,JC, Walter,B. The cellular response in neuroinflammation: The role of leukocytes, microglia and astrocytes in neuronal death and survival. *Clin. Neurosci. Res.* 2006;6: 237-245.
- Caudevilla-Galligo,F, Riba,J, Ventura,M, Gonzalez,D, Farre,M, Barbanoj,MJ, Bouso,JC. 4-Bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B): presence in the recreational drug market in Spain, pattern of use and subjective effects. *J. Psychopharmacol.* 2012;26: 1026-1035.
- de Boer,D, Bosman,I. A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. *Pharm. World Sci.* 2004;26: 110-113.
- Dimpfel,W, Spuler,M, Borbe,HO. Monitoring of the effects of antidepressant drugs in the freely moving rat by radioelectroencephalography (tele-stereo-EEG). *Neuropsychobiology* 1988;19: 116-120.
- Dimpfel,W, Spuler,M, Nichols,DE. Hallucinogenic and stimulatory amphetamine derivatives: fingerprinting DOM, DOI, DOB, MDMA, and MBDB by spectral analysis of brain field potentials in the freely moving rat (Tele-Stereo-EEG). *Psychopharmacology (Berl)* 1989;98: 297-303.
- Doosti,MH, Bakhtiari,A, Zare,P, Amani,M, Majidi-Zolbanin,N, Babri,S, Salari,AA. Impacts of early intervention with fluoxetine following early neonatal immune activation on depression-like behaviors and body weight in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2013;43: 55-65.
- Fan,LW, Tien,LT, Lin,RC, Simpson,KL, Rhodes,PG, Cai,Z. Neonatal exposure to lipopolysaccharide enhances vulnerability of nigrostriatal dopaminergic neurons to rotenone neurotoxicity in later life. *Neurobiol. Dis.* 2011a;44: 304-316.
- Fan,LW, Tien,LT, Zheng,B, Pang,Y, Lin,RC, Simpson,KL, Ma,T, Rhodes,PG, Cai,Z. Dopaminergic neuronal injury in the adult rat brain following neonatal exposure to lipopolysaccharide and the silent neurotoxicity. *Brain Behav. Immun.* 2011b;25: 286-297.
- Fujakova,M, Palenicek,T, Tyls,F, Kubesova,A, Brunovsky,M, Krajca,V, Horacek,J. The effect of phenylethylamine hallucinogens on quantitative electroencephalography and behavior in rats. *Behav Pharmacol* 22, 38. 2011.
- Gandal,MJ, Edgar,JC, Klook,K, Siegel,SJ. Gamma synchrony: towards a translational biomarker for the treatment-resistant symptoms of schizophrenia. *Neuropharmacology* 2012;62: 1504-1518.
- Gerez,M, Tello,A. Selected quantitative EEG (QEEG) and event-related potential (ERP) variables as discriminators for positive and negative schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 1995;38: 34-49.
- Geyer,MA, Krebs-Thomson,K, Braff,DL, Swerdlow,NR. Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology (Berl)* 2001;156: 117-154.

- Geyer,MA, Light,RK, Rose,GJ, Petersen,LR, Horwitt,DD, Adams,LM, Hawkins,RL. A characteristic effect of hallucinogens on investigatory responding in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1979;65: 35-40.
- Gonzalez-Burgos,G, Hashimoto,T, Lewis,DA. Alterations of cortical GABA neurons and network oscillations in schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.* 2010;12: 335-344.
- Haukvik,UK, Hartberg,CB, Agartz,I. Schizophrenia--what does structural MRI show? *Tidsskr. Nor Laegeforen.* 2013;133: 850-853.
- Kirsten,TB, Chaves-Kirsten,GP, Chaible,LM, Silva,AC, Martins,DO, Britto,LR, Dagli,ML, Torrao,AS, Palermo-Neto,J, Bernardi,MM. Hypoactivity of the central dopaminergic system and autistic-like behavior induced by a single early prenatal exposure to lipopolysaccharide. *J. Neurosci. Res.* 2012;90: 1903-1912.
- Krebs-Thomson,K, Paulus,MP, Geyer,MA. Effects of hallucinogens on locomotor and investigatory activity and patterns: influence of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *Neuropsychopharmacology* 1998;18: 339-351.
- Laakso,MP, Partanen,K, Riekkinen,P, Lehtovirta,M, Helkala,EL, Hallikainen,M, Hanninen,T, Vainio,P, Soininen,H. Hippocampal volumes in Alzheimer's disease, Parkinson's disease with and without dementia, and in vascular dementia: An MRI study. *Neurology* 1996;46: 678-681.
- Lingford-Hughes,A, Nutt,D. Neurobiology of addiction and implications for treatment. *Br. J. Psychiatry* 2003;182: 97-100.
- Ludewig,K, Geyer,MA, Etzensberger,M, Vollenweider,FX. Stability of the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and habituation in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2002;55: 129-137.
- Maloney,KJ, Cape,EG, Gotman,J, Jones,BE. High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. *Neuroscience* 1997;76: 541-555.
- Marek,GJ, Aghajanian,GK. LSD and the phenethylamine hallucinogen DOI are potent partial agonists at 5-HT<sub>2A</sub> receptors on interneurons in rat piriform cortex. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996;278: 1373-1382.
- Moya,PR, Berg,KA, Gutierrez-Hernandez,MA, Saez-Briones,P, Reyes-Parada,M, Cassels,BK, Clarke,WP. Functional selectivity of hallucinogenic phenethylamine and phenylisopropylamine derivatives at human 5-hydroxytryptamine (5-HT)<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2007;321: 1054-1061.
- Najmanova,V, Rambousek,L, Syslova,K, Bubenikova,V, Slamberova,R, Vales,K, Kacer,P. LC-ESI-MS-MS Method for Monitoring Dopamine, Serotonin and Their Metabolites in Brain Tissue. *Chromatographia* 73(1), 143-149. 2011.
- Nichols,DE. Hallucinogens. *Pharmacol. Ther.* 2004;101: 131-181.

- Palenicek,T, Balikova,M, Bubenikova-Valesova,V, Horacek,J. Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. *Psychopharmacology (Berl)* 2008;196: 51-62.
- Palenicek,T, Fujakova,M, Brunovsky,M, Balikova,M, Horacek,J, Gorman,I, Tyls,F, Tislerova,B, Sos,P, Bubenikova-Valesova,V, Hoschl,C, Krajca,V. Electroencephalographic spectral and coherence analysis of ketamine in rats: correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. *Neuropsychobiology* 2011a;63: 202-218.
- Palenicek,T, Fujakova,M, Tyls,F, Brunovsky,M, Kubesova,A, Horacek,J, Krajca,V. Quantitative EEG in animal models of psychosis: the impact of behaviour. *Eur Neuropsychopharmacol* 21, S317. 2011b.
- Palenicek,T, Hlinak,Z, Bubenikova-Valesova,V, Novak,T, Horacek,J. Sex differences in the effects of N,N-diethyllysergamide (LSD) on behavioural activity and prepulse inhibition. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry* 2010;34: 588-596.
- Paxinos,G, Watson,C. *The Rat Brain In Stereotactic Coordinates*. Elsevier Inc., 2007.
- Rohanova,M, Palenicek,T, Balikova,M. Disposition of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and its metabolite 4-bromo-2-hydroxy-5-methoxyphenethylamine in rats after subcutaneous administration. *Toxicol. Lett.* 2008;178: 29-36.
- Schmitt,A, Malchow,B, Hasan,A, Falkai,P. The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. *Front Neurosci.* 2014;8: 19.
- Shaw,JC, O'Connor,KP, Ongley,OC. EEG coherence as a measure of cerebral functional organization. In: Brazier,MB, Petche,H, editors. *Architectonics of the cerebral cortex*. New York: Raven, 1978, p 245-256.
- Shulgin,AT, Carter,MF. Centrally active phenethylamines. *Psychopharmacol. Commun.* 1975;1: 93-98.
- Small,SA, Schobel,SA, Buxton,RB, Witter,MP, Barnes,CA. A pathophysiological framework of hippocampal dysfunction in ageing and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 2011;12: 585-601.
- Smith,PL, Hagberg,H, Naylor,AS, Mallard,C. Neonatal Peripheral Immune Challenge Activates Microglia and Inhibits Neurogenesis in the Developing Murine Hippocampus. *Dev. Neurosci.* 2014.
- Sominsky,L, Fuller,EA, Bondarenko,E, Ong,LK, Averell,L, Nalivaiko,E, Dunkley,PR, Dickson,PW, Hodgson,DM. Functional programming of the autonomic nervous system by early life immune exposure: implications for anxiety. *PLoS. One.* 2013;8: e57700.
- Sominsky,L, Walker,AK, Ong,LK, Tynan,RJ, Walker,FR, Hodgson,DM. Increased microglial activation in the rat brain following neonatal exposure to a bacterial mimetic. *Behav. Brain Res.* 2012;226: 351-356.

- Spencer,SJ, Galic,MA, Pittman,QJ. Neonatal programming of innate immune function. *Am. J. Physiol Endocrinol. Metab* 2011;300: E11-E18.
- Swerdlow,NR, Stephany,N, Wasserman,LC, Talledo,J, Shoemaker,J, Auerbach,PP. Amphetamine effects on prepulse inhibition across-species: replication and parametric extension. *Neuropsychopharmacology* 2003;28: 640-650.
- Syslova,K, Rambousek,L, Kuzma,M, Najmanova,V, Bubenikova-Valesova,V, Slamberova,R, Kacer,P. Monitoring of dopamine and its metabolites in brain microdialysates: method combining freeze-drying with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2011;1218: 3382-3391.
- Tauscher,J, Fischer,P, Neumeister,A, Rappelsberger,P, Kasper,S. Low frontal electroencephalographic coherence in neuroleptic-free schizophrenic patients. *Biol. Psychiatry* 1998;44: 438-447.
- Tejkalová,H, Jelínek,F, Klaschka,J, Šťastný,F. Vliv perinatální zánětlivé reakce na rozvoj psychóze podobného chování: experimentální studie (Effect of perinatal inflammatory reaction on the induction of psychotic-like behaviour: experimental study). *Psychiatrie* 2007;11: 12-15.
- Tejkalová, H, Jelínek, F, Klaschka, J, Šťastný, F. Vliv chronického podávání klozapinu na chování potkanů v neuroinfekčním modelu schizofrenie (Effect of chronic clozapine administration on the behavioural pattern of rats in the neuroinfectious model of schizophrenia). *Psychiatrie* 2008; 12: 68-72.
- Tejkalová,H, Růžičková,Š, Klaschka,J. Vliv chronického podávání antipsychotik na expresi cytokinů v neuroinfekčním modelu schizofrenie (Effect of antipsychotic chronic administration on cytokine expression in neuroinfectious model of schizophrenia). *Psychiatrie* 2010;14: 19-21.
- Thatcher,RW, Krause,PJ, Hrybyk,M. Cortico-cortical associations and EEG coherence: a two-compartmental model. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1986;64: 123-143.
- Tyls,F, Palenicek,T, Fujakova,M, Kubsova,A, Brunovsky ,M, Horacek,J, Krajca,V. The effect of tryptamine hallucinogens on quantitative EEG and behavior in rats. *Behavioral Pharmacology* 2011;22: 39.
- Villalobos,CA, Bull,P, Saez,P, Cassels,BK, Huidobro-Toro,JP. 4-Bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and structurally related phenylethylamines are potent 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonists in *Xenopus laevis* oocytes. *Br. J. Pharmacol.* 2004;141: 1167-1174.
- Vollenweider,FX, Vollenweider-Scherpenhuyzen,MF, Babler,A, Vogel,H, Hell,D. Psilocybin induces schizophrenia-like psychosis in humans via a serotonin-2 agonist action. *Neuroreport* 1998;9: 3897-3902.
- Wang,KC, Fan,LW, Kaizaki,A, Pang,Y, Cai,Z, Tien,LT. Neonatal lipopolysaccharide exposure induces long-lasting learning impairment, less anxiety-like response and hippocampal injury in adult rats. *Neuroscience* 2013;234: 146-157.

- Wang,X, Rousset,CI, Hagberg,H, Mallard,C. Lipopolysaccharide-induced inflammation and perinatal brain injury. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2006;11: 343-353.
- Williams,S, Boksa,P. Gamma oscillations and schizophrenia. *J. Psychiatry Neurosci.* 2010;35: 75-77.
- Winterer,G, Egan,MF, Radler,T, Hyde,T, Coppola,R, Weinberger,DR. An association between reduced interhemispheric EEG coherence in the temporal lobe and genetic risk for schizophrenia. *Schizophr. Res.* 2001;49: 129-143.
- Woon,FL, Sood,S, Hedges,DW. Hippocampal volume deficits associated with exposure to psychological trauma and posttraumatic stress disorder in adults: a meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2010;34: 1181-1188.
- Young,GA. Relationship between amphetamine-induced effects on EEG power spectra and motor activity in rats. *Pharmacol Biochem. Behav* 1988;30: 489-492.
- Zhu,F, Zhang,L, Ding,YQ, Zhao,J, Zheng,Y. Neonatal intrahippocampal injection of lipopolysaccharide induces deficits in social behavior and prepulse inhibition and microglial activation in rats: Implication for a new schizophrenia animal model. *Brain Behav. Immun.* 2014;38: 166-174.

## SEZNAM PUBLIKACÍ DOKTORANDA

### 1. Publikace in extenso se vztahem k tématu disertační práce

#### a) s IF

**Kubešová, A.**, Tejkalová, H., Syslová, K., Kačer, P., Voundroušová, J., Tylš, F., Fujáková, M., Páleníček, T., Horáček, J. Biochemical, Histopathological and Morphological Profiling of a Rat Model of Early Immune Stimulation: Relation to Psychopathology. PLoS ONE 2015; 10(1): e0115439. **IF (2013) 3.534**

Páleníček, T., Fujáková, M., Brunovský, M., Horáček, J., Gorman, I., Balíková, M., Rambousek, L., Syslová, K., Kačer, P., Zach, P., Bubeníková-Valešová, V., Tylš, F., **Kubešová, A.**, Puskarčíková, J., Höschl, C. Behavioral, Neurochemical and Pharmacology-EEG Profiles of the Psychedelic Drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in Rats. Psychopharmacology (Berl) 2013; 225 (1): 75-93. **IF (2013) 3.988**

#### b) bez IF

Páleníček, T., Fujáková, M., Tylš, F., **Kubešová, A.**, Brunovský, M., Horáček, J. Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací - animální model psychózy. Psychiatrie 2011; 15 (suppl. 2): 44-48.

### 2. Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertační práce

#### a) s IF

Fujáková, M., Páleníček, T., Brunovský, M., Gorman, I., Tylš, F., **Kubešová, A.**, Řípková, D., Krajča, V., Horáček, J. The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. Pharmacol Biochem Behav 2014; 122C: 212-221. **IF (2013) 2.820**

**Kubešová, A.**, Bubešková-Valešová, V., Mertlová, M., Páleníček, T., Horáček, J. Impact of psychotropic drugs on adult hippocampal neurogenesis. Neurosci Res 2012; 72 (2): 93-98. **IF (2012) 2.204**

**b) bez IF**

Nováková, P., Tylš, F., **Kubešová, A.**, Kadeřábek, L., Fujáková, M., Páleníček, T. Role kanabinoidů a kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. *Psychiatrie*, 2014; 18(4):186-192.

**Kubešová, A.**, Horáček, J. Vliv psychotropních látek na neurogenezi v dospělém savčím hipokampu. *Psychiatrie* 2013; 17 (1): 18-21.

**Kubešová, A.** Vliv kofeinové terapie u předčasně narozených dětí na neuroprotektci. *Psychiatrie* 2012; 16 (2): 120.