

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**



Autoreferát dizertační práce

**Sérové koncentrace D-serinu a glycinu  
ve vztahu k negativním příznakům:  
dysfunkce NMDA receptoru v patogenezi schizofrenie**

**MUDr. Jaromír Hons**

Hradec Králové 2008



**Univerzita Karlová v Praze**  
**Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Sérové koncentrace D-serinu a glycinu  
ve vztahu k negativním příznakům:  
dysfunkce NMDA receptoru v patogenezi schizofrenie**

**MUDr. Jaromír Hons**

Autoreferát dizertační práce

Doktorský studijní program: Psychiatrie

Hradec Králové 2008

Školící pracoviště: Psychiatrická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové  
Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Doktorský studijní program: Psychiatrie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Jan Libiger, CSc.

Uchazeč: MUDr. Jaromír Hons

Školitel: prof. MUDr. Jan Libiger, CSc.

Oponenti: prof. MUDr. Petr Zvolský, DrSc.  
Psychiatrická klinika VFN Praha  
1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

doc. MUDr. Pavel Mohr, Ph.D.  
Psychiatrické centrum Praha  
3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Autoreferát byl rozeslá

Obhajoba se koná před Komisí pro obhajoby  
dizertačních prací v doktorském studijním programu  
**Psychiatrie**  
**v pondělí 15. září 2008 od 9.30 hodin,**  
Posluchárna Psychiatrické kliniky ve Fakultní  
Nemocnici v Hradci Králové

S dizertační prací je možno se seznámit na děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové,  
Šimkova 870, Hradec Králové.

Dizertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního  
programu Psychiatrie na Psychiatrické klinice Univerzity Karlovy v Praze, Lékařské fakulty  
v Hradci Králové a Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Klinická studie, která je podkladem dizertační práce, byla realizována za finanční podpory  
výzkumného záměru MSM 0021620816.

prof. MUDr. Jan Libiger, CSc.  
předseda komise pro obhajoby dizertačních prací  
v doktorském studijním programu Psychiatrie

## OBSAH

Seznam zkratk.....	4
Souhrn.....	5
Summary.....	6
Úvod.....	8
Cíle a hypotézy práce.....	10
Metodika.....	10
Výsledky.....	13
Diskuze.....	22
Závěr.....	25
Literatura.....	27
Seznam publikací doktoranda.....	32

## Seznam zkratk

CNS	centrální nervový systém
HEB	hematoencefalická bariéra
HPLC	vysokovýkonná kapalinová chromatografie
LTP	dlouhodobá potenciace
MKN-10	Mezinárodní klasifikace nemocí - 10. revize
NMDA	N-methyl-D-aspartát
PANSS	The Positive and Negative Syndrome Scale
SANS	The Scale for the Assessment of Negative Symptoms
$\lambda_{em}$	emisní vlnová délka
$\lambda_{ex}$	excitační vlnová délka

## Souhrn

Psychotomimetické účinky antagonistů NMDA receptoru fencyklidinu a ketaminu a pozitivní výsledky adjuvantní léčby modulátory NMDA receptorů D-cykloserinem, D-serinem a glycinem svědčí pro podíl dysfunkce NMDA receptoru na patofyziologii schizofrenie. Excitační aminokyseliny D-serin a glycin účinkují jako endogenní selektivní koagonisté na glycinovém místě NMDA receptoru a moduluji tak glutamatergní neurotransmisi a jejím prostřednictvím také dlouhodobou potenciaci (LTP). U nemocných schizofrenií byly ve srovnání se zdravými subjekty zjištěny snížené koncentrace D-serinu a glycinu v krevním séru a v mozkomíšním moku. D-serin a glycin v klinických studiích u nemocných schizofrenií zlepšovaly při augmentaci léčby antipsychotiky 1. a 2. generace negativní, pozitivní, kognitivní a depresivní příznaky. V metaanalýze 18 krátkodobých studií účinků agonistů NMDA receptoru byl u D-serinu a glycinu zaznamenán jen účinek na negativní příznaky. Na základě těchto výsledků jsme předpokládali souvislost sérových koncentrací D-serinu a glycinu s přítomností specifické schizofrenní symptomatiky. Hlavním cílem naší studie bylo testování hypotézy asociace sérových koncentrací D-serinu a glycinu s intenzitou negativních příznaků. Dalším cílem bylo ověření předpokladu přítomnosti nižších sérových koncentrací D-serinu a glycinu u nemocných schizofrenií ve srovnání se zdravými subjekty.

Do studie jsme zařadili 50 ambulantně léčených nemocných s diagnózou schizofrenie dle MKN-10 a věkově a pohlavím zpárovanou skupinu 50 zdravých dobrovolníků. Sérové koncentrace D-serinu a glycinu byly u všech subjektů studie stanoveny metodou vysokovýkonné kapalinové chromatografie (HPLC). Psychopatologie byla hodnocena pomocí psychiatrických posuzovacích stupnic PANSS (The Positive and Negative Syndrome Scale) a SANS (The Scale for the Assessment of Negative Symptoms). U nemocných jsme potvrdili předpoklad negativního vztahu sérové koncentrace glycinu s intenzitou negativních příznaků hodnocených stupnicí SANS a PANSS. Sérová koncentrace glycinu byla u nemocných ve srovnání se zdravými dobrovolníky nižší. Vztah mezi sérovou koncentrací D-serinu a intenzitou negativních příznaků jsme neprokázali. U nemocných nebyla přítomna ani nižší sérová koncentrace D-serinu. Sérová koncentrace serinu byla u nemocných nižší a podíl D-serinu byl vyšší než u zdravých dobrovolníků. Sérová koncentrace serinu negativně asociovala s intenzitou negativních příznaků. Tento náález nebyl zatím v klinických studiích popsán a může souviset s účinky agonistů NMDA receptoru na negativní příznaky.

Objasnění rozdílů v nálezech sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu má u nemocných schizofrenií velký praktický význam vzhledem k perspektivě léčby agonisty NMDA receptorů cílené na úpravu dysfunkce glutamatergního systému. Předpokládáme, že stanovení asociací biochemických a klinických profilů může pomoci při identifikaci specifických subtypů schizofrenního onemocnění. Hodnoty sérové koncentrace D-serinu a glycinu by se tak v budoucnu mohly stát periferními biomakery funkční úrovně NMDA receptorů v CNS a případně též citlivosti k léčbě excitačními aminokyselinami.

## Summary

The interest in the role of NMDA receptor dysfunction in the pathophysiology of schizophrenia is supported by the psychotomimetic action of the NMDA receptor antagonists phencyclidine and ketamine and also the results of adjuvant treatment trials with the NMDA receptor modulators D-cycloserine, D-serine and glycine. Excitatory amino acids D-serine and glycine act as endogenous selective full co-agonists at the glycine site of the NMDA receptor and modulate glutamatergic neurotransmission and long-term potentiation (LTP). Significantly decreased D-serine and glycine levels in blood serum and cerebrospinal fluid were reported in patients with schizophrenia in comparison to healthy control subjects. Positive clinical effect of peripherally administered D-serine and glycine was demonstrated. Augmentation by D-serine and glycine improved negative, positive, cognitive and depressive symptoms in patients treated with first and second generation antipsychotics. However, the systematic review and meta-analysis of clinical effects of the NMDA receptor agonists did not confirm the results: D-serine and glycine improved only negative symptoms. We hypothesized that D-serine and glycine serum levels might be associated with specific characteristics of psychopathology in schizophrenia. The main objective of our study was to test the hypothesis of the association between D-serine and glycine serum levels and negative symptoms in patients with schizophrenia. Secondary objective was to examine the assumption of D-serine and glycine serum levels differences between a population of mostly chronic patients with schizophrenia and healthy controls.

50 outpatients with schizophrenia diagnosed in agreement with the ICD-10 (Diagnostic Criteria for Research) and 50 age and gender matched healthy control subjects were recruited into the study. D-serine and glycine serum levels were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC) in all subjects. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) and the Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS) were used to assess



the symptoms of schizophrenia in the patients. We confirmed the hypothesized association between glycine serum level and intensity of negative symptoms assessed by the SANS or the PANSS negative symptoms subscale in patients with schizophrenia. Mean glycine serum level was significantly lower in patients as compared to healthy controls. We did not find a significant association between serum level of D-serine and negative symptoms. We also did not confirm the association of schizophrenia with decreased D-serine serum levels in the sample of patients. On the contrary, the total serine serum levels in our patients were lower and D-serine/total serine ratio higher than in healthy controls. We found lower total serine serum levels associated with the higher intensity of negative symptoms assessed by the PANSS and the SANS. These findings had not been reported previously and may be related to the effects of the NMDA receptor agonists on negative symptoms in clinical studies.

It is difficult to account for the differences in findings of D-serine, serine and glycine serum levels in patients with schizophrenia. Although, its practical significance appear to be considerable for the targeted treatment with the NMDA receptor agonists. We assumed that various biochemical and clinical profiles can help to identify the specific subtypes of schizophrenia. Serum assays of endogenous D-serine and glycine may become future tests that detect biomarkers of specific treatment indications related to NMDA receptor dysfunction in schizophrenia.

## Úvod

Na patofyziologii schizofrenie se podílí dysfunkce glutamatergní neurotransmise v prefrontální kůře a limbickém systému [38]. Na souvislost glutamatergní dysfunkce se sníženou aktivitou NMDA (N-methyl-D-aspartát) receptorů u schizofrenie poukazují účinky kompetitivních antagonistů NMDA receptoru fencyklidinu a ketaminu, které u zdravých lidí způsobují rozvoj příznaků podobných schizofrenii včetně negativních příznaků a kognitivního deficitu [22, 26]. Pro hypofunkci NMDA receptorů u schizofrenie svědčí i výsledky adjuvanční léčby jejich agonisty D-cykloserinem [7, 9, 19], glycinem [20, 23, 24] a D-serinem [21, 43].

D-serin a glycin svým koagonistickým účinkem na glycinovém modulačním místě NMDA receptoru za fyziologických podmínek moduluji glutamatergní neurotransmisi a jejím prostřednictvím také dlouhodobou potenciaci („long-term potentiation“, LTP) [39]. K aktivaci NMDA receptoru, otevření iontového kanálu pro sodíkové a vápníkové ionty a následné depolarizaci postsynaptického neuronu vede vazba D-serinu nebo glycinu na glycinové místo současně s vazbou glutamátu na primární vazebné místo NMDA receptoru. Synaptické koncentrace D-serinu a glycinu, které se zatím nepodařilo stanovit [52], jsou zřejmě ovlivněny hlavně syntézou a transportem obou aminokyselin [38]. Ve srovnání s glycinem je vazebná potence D-serinu pro aktivaci všech podjednotek NMDA receptoru třikrát vyšší [32] a byla prokázána také až stokrát vyšší funkční účinnost D-serinu v potenciaci NMDA receptorem zprostředkované spontánní synaptické aktivity [52]. Vyšší efektivita D-serinu při aktivaci kanálu spojeného s NMDA receptorem zřejmě souvisí s rozdílným metabolismem a mechanismy transportu.

Bendiková prokázala u nemocných schizofrenií ve srovnání se zdravými subjekty 25% snížení koncentrace D-serinu a poměru D-serin/L-serin v mozkomíšním moku [4]. U nemocných byly zjištěny také nižší sérové koncentrace D-serinu [13, 53] a vyšší sérové koncentrace serinu a L-serinu [13]. Nález nižšího procentuálního zastoupení D-serinu v serinu v krevním séru [13] vedl k úvahám o snížené aktivitě serinracemázy u schizofrenie. Nižší podíl D-serinu byl zjištěn také v mozkomíšním moku u neléčených nemocných s první epizodou schizofrenie [14].

Také nálezy nižších koncentrací glycinu a hodnoty poměru glycin/serin v krevní plazmě ve srovnání se zdravými subjekty [33, 40] svědčí pro změnu metabolismu agonistů NMDA receptoru u schizofrenie. Zajímavá je naznačená souvislost nižší koncentrace glycinu s vyšší intenzitou negativních příznaků [33, 40]. Zlepšení negativních příznaků při augmentaci

D-cykloserinem u nemocných schizofrenií léčených klozapinem bylo spojeno se zvýšením sérové koncentrace glycinu [10]. Pro možnou souvislost změny metabolismu glycinu a intenzity negativních příznaků u schizofrenie svědčí také výraznější snížení intenzity negativních příznaků při augmentaci D-cykloserinem u nemocných s nižší koncentrací glycinu v séru před léčbou [17].

V klinických studiích byla u nemocných schizofrenií při augmentaci léčby antipsychotiky testována účinnost agonistů NMDA receptoru glycinu [20, 23, 24] a D-serinu [21, 43]. Přestože nebyly mechanismy transportu D-serinu a glycinu přes hematoencefalickou bariéru (HEB) dosud objasněny, jejich pozitivní klinický účinek u nemocných schizofrenií po periferním podání tento transport předpokládá. D-serin v augmentaci léčby antipsychotiky 2. generace zlepšoval ve srovnání s placebem pozitivní a negativní příznaky a kognitivní deficit [21, 43] a depresivní příznaky [21]. Zvýšení sérové koncentrace D-serinu bylo spojeno s výraznějším zlepšením negativních, pozitivních a kognitivních příznaků [43]. V roce 1994 Javitt zjistil, že také glycin při augmentaci léčby antipsychotiky 1. generace významně snižuje intenzitu negativních příznaků u nemocných s chronickou schizofrenií [23]. V dalších studiích byl nejen potvrzen účinek glycinu na negativní příznaky [16, 18, 20, 24], ale byl zjištěn také léčebný účinek na kognitivní deficit [16, 20, 24], pozitivní [20] a depresivní příznaky [16] schizofrenie. Léčba glycinem vedla ke zvýšení jeho sérové koncentrace [6, 16, 18, 24] a vyšší koncentrace glycinu v séru po léčbě asociovala s výraznějším klinickým účinkem [20]. Zlepšení negativních příznaků bylo nejvýraznější u nemocných s nejnižší sérovou koncentrací glycinu před započítím léčby [16, 18]. Klinické účinky agonistů NMDA receptoru shrnují výsledky konzervativní a metodicky kritické metaanalýzy 18 krátkodobých studií: D-serin a glycin u nemocných schizofrenií zlepšovaly jen negativní příznaky a nebyl zjištěn účinek na pozitivní příznaky a kognitivní deficit [45].

Na základě série nálezů odlišných sérových koncentrací a specifických klinických účinků D-serinu a glycinu u nemocných schizofrenií jsme předpokládali možnost využít stanovení sérových koncentrací těchto aminokyselin ke klinické a laboratorní diferenciaci schizofrenních psychóz.

## **Cíle a hypotézy práce**

### **Cíle studie**

Popis změn metabolismu D-serinu a glycinu u nemocných se schizofrenií ve srovnání se zdravými kontrolními subjekty.

Popis vztahu sérových koncentrací D-serinu a glycinu a intenzity negativních příznaků u nemocných se schizofrenií.

### **Hypotéza 1:**

U nemocných schizofrenií je významně nižší koncentrace D-serinu v krevním séru ve srovnání s koncentrací D-serinu v krevním séru u zdravých kontrolních subjektů.

### **Hypotéza 2:**

U nemocných schizofrenií je významně nižší koncentrace glycinu v krevním séru ve srovnání s koncentrací glycinu v krevním séru u zdravých kontrolních subjektů.

### **Hypotéza 3:**

Intenzita negativních příznaků u nemocných schizofrenií negativně koreluje s koncentrací D-serinu v krevním séru.

### **Hypotéza 4:**

Intenzita negativních příznaků u nemocných schizofrenií negativně koreluje s koncentrací glycinu v krevním séru.

## **Metodika**

### **Subjekty klinické studie**

Do klinické studie byli po podepsání informovaného souhlasu zařazováni nemocní schizofrenií a zdraví dobrovolníci starší 18 let. Informovaný souhlas a protokol studie EAK01-05 byly schváleny Etickou komisí FN HK, LF UK a VLA JEP v Hradci Králové na zasedání dne 12.5. 2005. U nemocných byla diagnostikována schizofrenie dle kritérií 10. revize MKN. Všichni nemocní byli v době své účasti ve studii z klinického hlediska ve stabilním stavu ambulantně léčeni na Psychiatrické klinice FN v Hradci Králové. Do studie nebyli zařazeni nemocní, kteří byli v posledních 5 měsících léčeni elektrokonvulzivní léčbou, těhotné nebo nemocné po porodu v období laktace, nemocní s přítomností abúzu psychoaktivních látek v posledních 6 měsících nebo pozitivním nálezem v toxikologickém

vyšetření moči. Psychofarmakologická ani jiná medikamentózní léčba, kterou nemocní užívali, nebyla v souvislosti se zařazením do studie měněna. Zdraví dobrovolníci neužívali žádná psychofarmaka.

### **Průběh klinické studie**

Před zařazením do klinické studie byla v rámci výběru nemocných provedena kompletace demografických a anamnestických dat. Nemocní byli psychiatricky vyšetřeni, byla posouzena přítomnost vstupních kritérií. Po podepsání informovaného souhlasu a zařazení do studie nemocní pokračovali v léčbě indikované v rámci ambulantní péče včetně užívání nasazených psychofarmak. Nemocným schizofrenií a zdravým dobrovolníkům byl ráno mezi 8.00 a 9.30 hod. po 12 hodinovém lačnění proveden odběr žilní krve (cca 20 ml) k laboratornímu stanovení sérových koncentrací serinu, D-serinu a glycinu metodou vysokovýkonné kapalinové chromatografie („high-performance liquid chromatography“, HPLC). Nemocní byli následně během dalších 4 hodin psychiatricky vyšetřeni, psychopatologie byla hodnocena pomocí posuzovacích stupnic PANSS (The Positive and Negative Syndrome Scale; 30 položek, skór 1-7) [25] a SANS (The Scale for the Assessment of Negative Symptoms; 30 položek, skór 0-5) [1]. Vyšetření klinického stavu nemocných a hodnocení psychopatologie bylo provedeno jedním kvalifikovaným psychiatrem se zkušeností v použití posuzovacích stupnic.

### **Stanovení sérových koncentrací excitálních aminokyselin**

Chromatografická analýza byla prováděna na systému HPLC typ LC-10A vp (Shimadzu, Japonsko) v laboratořích Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové. Chromatografická separace byla provedena v režimu gradientové eluce v systému reverzní fáze. Pro stanovení D-serinu byl jako mobilní fáze použit 0,21 mol/l octanový pufr o hodnotě pH 5,6 (A) a metanol (B) [55]. Na začátku separace byla kolona proplachována mobilními fázemi v poměru 75:25 a po 150 minutách byl poměr mobilních fází 39,2:60,8. Průtok mobilních fází byl 0,5 ml/min. Separace byla prováděna na dvou sériově zapojených kolonách Lichrocard 250x4 mm Lichrospher RP-18e s velikostí částic sorbentu 5 µm (Merck). Kolona byla temperována na teplotu 22 °C. Signál byl detekován pomocí fluorescenčního detektoru ( $\lambda_{em}/\lambda_{ex}$  454/337) [28, 46, 55]. Průměrná reprodukovatelnost byla pro D-serin 4,54 %, hodnota bias 1,58 %, limity detekce byly stanoveny na 0,27 µmol/l. Serin a glycin byly separovány za použití 3 mobilních fází: (A) 0,05 mol/l octanový pufr o hodnotě pH 7,3, (B) 0,1 mol/l octanový pufr – acetonitril – metanol (46:44:10)

a (C) metanol [28, 29, 46]. Separace byla prováděna na koloně Lichrocard 250x4 mm Lichrospher RP-18e s velikostí částic sorbentu 5 µm (Merck). Kolona byla temperována na teplotu 40 °C. Signál byl detekován pomocí fluorescenčního detektoru ( $\lambda_{em}/\lambda_{ex}$  455/230 nm) [28, 46, 55]. Průměrná reprodukovatelnost byla pro serin 8,91 % a pro glycin 6,14 %. Hodnota bias byla 1,91 % pro serin a 4,2 % pro glycin, limity detekce byly stanoveny na 2,58 µmol/l pro serin a 0,85 µmol/l pro glycin.

### **Vyšetření psychopatologie**

Psychopatologie byla u nemocných schizofrenií hodnocena psychiatrickými posuzovacími stupnicemi:

PANSS – The Positive and Negative Syndrome Scale [25]

(bodové rozpětí skórování v jednotlivých položkách: 1-7)

PANSS – celkový skór

PANSS – subskór škály pozitivních příznaků – 7 položek (P1 – P7)

PANSS – subskór škály negativních příznaků – 7 položek (N1 – N7)

PANSS – subskór škály obecné psychopatologie – 16 položek (G1 – G16)

SANS – The Scale for the Assessment of Negative Symptoms [1]

(bodové rozpětí skórování v jednotlivých položkách: 0-5)

SANS – celkový skór

SANS – subskór škály Citová oploštělost nebo otupělost – 9 položek

SANS – subskór škály Alogie – 6 položek

SANS – subskór škály Abulie, apatie – 5 položek

SANS – subskór škály neschopnost prožitku, nespolečenská – 6 položek

SANS – subskór škály Zájem, pozornost – 4 položky

### **Statistické hodnocení**

Pro jednotlivé soubory dat a skórů byl stanoven průměr, směrodatná odchylka, medián a rozpětí hodnot. Ke stanovení rozdílů hodnot proměnných mezi skupinou nemocných a skupinou zdravých dobrovolníků byl použit t-test, v případě nenormálního rozložení dat neparametrické testy Kolmogorov-Smirnov test a Mann-Whitney *U* test. Rozdíly hodnot proměnných mezi jednotlivými skupinami jsou prezentovány pomocí krabčkových grafů (box plot). Ke stanovení asociace jednotlivých proměnných byly použity neparametrické

Spearmanovy korelační koeficienty. Asociace hodnot sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu s hodnotami skóre posuzovacích stupnic psychopatologie jsou prezentovány pomocí bodových grafů (scatter plot) s regresními přímkami. Zvolená hladina významnosti byla  $\alpha = 0,05$ .

## Výsledky

Do klinické studie bylo zařazeno 50 nemocných schizofrenií (33 mužů a 17 žen; průměr  $\pm$  SD věk,  $35,1 \pm 11,1$  roků; medián, 31,5 roku; min-max, 21-62 roků) a věkově a pohlavím zpárovaná skupina 50 zdravých dobrovolníků (33 mužů a 17 žen; průměr  $\pm$  SD věk,  $35,1 \pm 11,1$  roků; medián, 32 roků; min-max, 19-59 roků). Ve skupině nemocných byl nejčastěji diagnostikován paranoidní typ schizofrenie ( $n=35$ ), dále reziduální ( $n=7$ ), nediferencovaný ( $n=5$ ), hebefrenní ( $n=2$ ) a simplexní typ ( $n=1$ ). 49 nemocných bylo léčeno antipsychotiky. Jedna pacientka neužívala žádná psychofarmaka, v době účasti ve studii byla z klinického hlediska ve stabilním stavu, doba trvání její nemoci byla 2 roky. 4 nemocní byli léčeni monoterapií antipsychotikem 1. generace, 36 nemocných užívalo v monoterapii antipsychotikum 2. generace. 5 nemocných bylo léčeno kombinací antipsychotika 1. a 2. generace, 4 nemocní kombinací dvou antipsychotik 2. generace.

V hodnotě sérové koncentrace D-serinu jsme mezi skupinou nemocných schizofrenií a skupinou zdravých dobrovolníků nenalezli rozdíl ( $z = -0,82$ ,  $p = 0,410$ , Mann-Whitney  $U$  test) (tab. 1). Hodnota sérové koncentrace glycinu byla u nemocných schizofrenií ve srovnání se zdravými významně nižší ( $z = 3,54$ ,  $p = 0,0004$ , Mann-Whitney  $U$  test) (tab. 1, graf 1). Hodnota sérové koncentrace D-serinu nesouvisela s hodnotou skóru subškály pro hodnocení negativních příznaků PANSS (N1-N7) ( $r = 0,02$ ,  $p = 0,89$ , Spearmanův korelační koeficient), s hodnotou celkového skóru škály SANS ( $r = -0,08$ ,  $p = 0,58$ ) ani s hodnotami skóre subškál SANS (tab. 2). Hodnoty sérových koncentrací D-serinu u skupiny 12 nemocných s nejnižší intenzitou negativních příznaků (celkový skór SANS  $\leq 14,5$ ) byly porovnány s hodnotami u skupiny 12 nemocných s nejvyšší intenzitou negativních příznaků (celkový skór SANS  $\geq 39$ ). Mezi oběma skupinami jsme v hodnotě sérové koncentrace D-serinu nenalezli rozdíl (tab. 3).

Hodnota sérové koncentrace glycinu u nemocných schizofrenií negativně asociovala s hodnotou celkového skóru PANSS ( $r = -0,30$ ,  $p = 0,03$ ), skóru subškály negativních příznaků PANSS (N1-N7) ( $r = -0,38$ ,  $p = 0,007$ ) (graf 2), hodnotou celkového skóru škály SANS ( $r = -0,40$ ,  $p = 0,004$ ) (graf 3) a skóru subškál citové oploštělosti ( $r = -0,33$ ,  $p = 0,02$ ),

alogie ( $r = -0,37, p = 0,008$ ) a subškály neschopnosti prožitku a nespolečenskosti ( $r = -0,50, p = 0,0002$ ) stupnice SANS (tab. 2). U nemocných s nejvyšší intenzitou negativních příznaků dle celkového skóru SANS (celkový skór SANS  $\geq 39$ ) jsme prokázali významně nižší hodnotu sérové koncentrace glycinu ( $p = 0,002$ , t-test) (tab. 3, graf 4).

U nemocných jsme ve srovnání se zdravými dobrovolníky zjistili významně sníženou sérovou koncentraci serinu ( $z = 3,17, p = 0,006$ , Kolmogorov-Smirnov test) (tab 1, graf 5), která negativně asociovala s hodnotou skóru subškály PANSS pro hodnocení intenzity negativních příznaků (N1-N7) ( $r = -0,39, p = 0,005$ ), hodnotou celkového skóru SANS ( $r = -0,44, p = 0,001$ ) (graf 6) a skórů subškál citové oploštělosti ( $r = -0,38, p = 0,006$ ), alogie ( $r = -0,37, p = 0,008$ ) a neschopnosti prožitku a nespolečenskosti ( $r = -0,52, p = 0,00009$ ) (tab. 2). U skupiny 12 nemocných s nejvyšší intenzitou negativních příznaků dle celkového skóru SANS (celkový skór SANS  $\geq 39$ ) jsme zjistili nižší hodnotu sérové koncentrace serinu ( $p = 0,0008$ , t-test) (tab. 3) a vyšší hodnotu poměru D-serin/serin ( $p = 0,039$ , t-test) (tab. 3). Podíl D-serinu byl u nemocných ve srovnání se zdravými dobrovolníky vyšší ( $z = -2,81, p = 0,022$ , Kolmogorov-Smirnov test) (tab. 1).

Hodnoty sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu a hodnoty poměrů D-serin/serin a glycin/serin ve skupině nemocných a ve skupině zdravých dobrovolníků nebyly závislé na věku. U nemocných jsme nenalezli asociaci koncentrace D-serinu, serinu nebo glycinu s trváním nemoci nebo s dávkou antipsychotika vyjádřenou chlorpromazinovým ekvivalentem (tab. 2). Ve skupině nemocných jsme nenalezli pohlavní rozdíly ve věku, v délce trvání nemoci, v dávce antipsychotik (chlorpromazinový ekvivalent) ani v intenzitě psychotické symptomatiky (hodnoty celkových skórů psychiatrických posuzovacích stupnic PANSS a SANS). Nemocné ženy měly v porovnání s nemocnými muži statisticky nevýznamně nižší sérovou koncentraci D-serinu ( $p = 0,052$ , Mann-Whitney  $U$  test). Při srovnání hodnot sérových koncentrací serinu a glycinu mezi oběma pohlavími nebyly ve skupině nemocných schizofrenií a ve skupině zdravých dobrovolníků rozdíly. Při srovnání skupin nemocných a zdravých žen jsme nenalezli rozdíly v hodnotách sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu. Nemocní muži měli ve srovnání se zdravými muži nižší sérovou koncentraci serinu ( $p = 0,003$ , t-test), glycinu ( $p = 0,0001$ , t-test) a hodnotu poměru D-serin/serin ( $p = 0,001$ , Mann-Whitney  $U$  test) (tab. 4).



**Tabulka 1:** Srovnání hodnot sérových koncentrací excitačních aminokyselin mezi skupinou nemocných schizofrenií a skupinou zdravých dobrovolníků (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; <sup>1</sup> Mann-Whitney  $U$  test; <sup>2</sup> Kolmogorov-Smirnov test; SD, směrodatná odchylka).

Sérová koncentrace		Nemocní schizofrenií (n=50)	Zdraví dobrovolníci (n=50)	$p$
D-serin ( $\mu\text{mol/l}$ )	průměr $\pm$ SD	3,30 $\pm$ 1,53	3,10 $\pm$ 1,59	0,410 <sup>1</sup>
	medián	2,75	2,73	
serin ( $\mu\text{mol/l}$ )	průměr $\pm$ SD	83,09 $\pm$ 27,70	100,87 $\pm$ 21,72	0,006*** <sup>2</sup>
	medián	81,4	99,35	
D-serin/serin	průměr $\pm$ SD	0,043 $\pm$ 0,023	0,031 $\pm$ 0,014	0,022* <sup>2</sup>
	medián	0,036	0,029	
glycin ( $\mu\text{mol/l}$ )	průměr $\pm$ SD	176,52 $\pm$ 69,97	226,95 $\pm$ 70,40	0,0004*** <sup>1</sup>
	medián	176	225,5	
glycin/serin	průměr $\pm$ SD	2,13 $\pm$ 0,46	2,27 $\pm$ 0,61	0,343 <sup>1</sup>
	medián	2,04	2,19	

**Tabulka 2:** Asociace demografických a psychopatologických ukazatelů s hodnotami sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu u skupiny nemocných schizofrenií (*r*, Spearmanův korelační koeficient; *p*, hladina významnosti; \* *p* < 0,05; \*\* *p* < 0,01; \*\*\* *p* < 0,001; PANSS, The Positive and Negative Syndrome Scale; SANS, The Scale for the Assessment of Negative Symptoms).

Demografické a psychopatologické ukazatele	D-serin		serin		glycin	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Věk	-0,07	0,64	-0,20	0,16	-0,17	0,24
Trvání nemoci	0,13	0,36	-0,14	0,33	-0,17	0,24
Dávka antipsychotika – chlorpromazinový ekvivalent	0,23	0,10	0,19	0,19	0,16	0,25
PANSS: celkový skór	0,01	0,93	-0,22	0,12	-0,30	0,03*
PANSS: skór P1-P7	0,08	0,60	0,14	0,34	-0,06	0,70
PANSS: skór N1-N7	0,02	0,89	-0,39	0,005**	-0,38	0,007**
PANSS: skór G1-G16	0,01	0,94	-0,17	0,25	-0,23	0,11
SANS: celkový skór	-0,08	0,58	-0,44	0,001**	-0,40	0,004**
SANS: citová oploštělost	-0,003	0,98	-0,38	0,008**	-0,33	0,02*
SANS: alogie	-0,16	0,27	-0,37	0,008**	-0,37	0,008**
SANS: abúlie a apatie	-0,04	0,76	-0,25	0,08	-0,15	0,30
SANS: neschopnost prožitku a nespolečenost	-0,15	0,29	-0,52	0,00009***	-0,51	0,0002***
SANS: zájem a pozornost	0,07	0,65	-0,26	0,07	-0,24	0,09

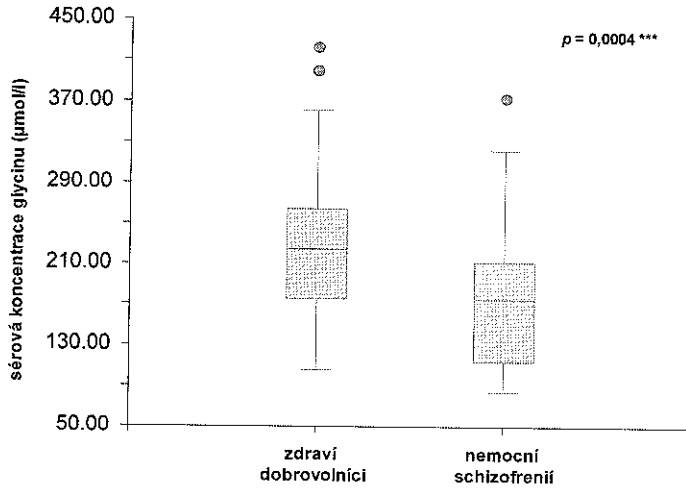
**Tabulka 3:** Srovnání věku a sérových koncentrací excitačních aminokyselin mezi 1. a 4. skupinou u nemocných schizofrenií rozdělených dle hodnot celkového skóru SANS ( $p$ , hladina významnosti; \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; <sup>1</sup> Mann-Whitney U test, <sup>2</sup> t-test; sér. konc., sérová koncentrace).

Věk / Sérová koncentrace	1. skupina (n=12; SANS: celkový skóre ≤ 14,5)			4. skupina (n=12; SANS: celkový skóre ≥ 39)			$p$
	průměr ± SD	medián	min-max	průměr ± SD	medián	min-max	
Věk (roky)	32,6 ± 8,9	30,5	21-53	34,4 ± 12,0	32,5	21-61	0,676 <sup>2</sup>
D-serin (μmol/l)	3,25 ± 1,11	3,45	1,18-5,24	3,51 ± 1,99	2,59	1,57-8,29	0,977 <sup>1</sup>
serin (μmol/l)	100,1 ± 25,9	97,8	42,6-136,6	65,9 ± 16,1	64,3	38,2-94,6	<b>0,0008***<sup>2</sup></b>
D-serin/serin	0,033 ± 0,012	0,034	0,017-0,059	0,056 ± 0,031	0,041	0,026-0,110	<b>0,039*<sup>2</sup></b>
glycin (μmol/l)	210,1 ± 59,4	196,5	98,9-309,5	137,0 ± 44,4	121,8	84,2-231,3	<b>0,002***<sup>2</sup></b>
glycin/serin	2,15 ± 0,50	2,08	1,46-3,16	2,10 ± 0,49	1,96	1,44-2,91	0,797 <sup>2</sup>

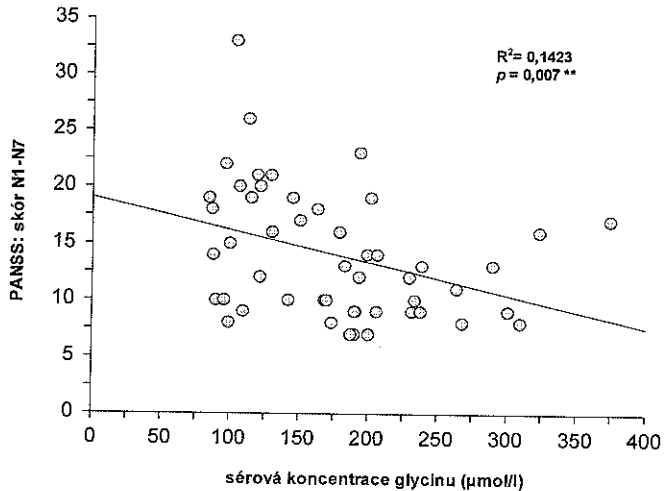
**Tabulka 4:** Srovnání věku a sérových koncentrací excitačních aminokyselin mezi nemocnými schizofrenií a zdravými dobrovolníky ve skupině mužů a ve skupině žen ( $p$ , hladina významnosti; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; <sup>1</sup> Mann-Whitney U test, <sup>2</sup> t-test, <sup>3</sup> Kolmogorov-Smirnov test).

Věk / Sérová koncentrace	Muži			Ženy		
	nemocní (n=33)	zdraví (n=33)	$p$	nemocné (n=17)	zdravé (n=17)	$p$
	medián	medián		medián	medián	
Věk (roky)	31	32	0,949 <sup>1</sup>	33	32	0,783 <sup>1</sup>
D-serin (μmol/l)	2,91	2,62	0,067 <sup>1</sup>	2,46	2,79	0,209 <sup>1</sup>
serin (μmol/l)	78,6	99,5	0,003** <sup>2</sup>	92,5	96,9	0,113 <sup>1</sup>
D-serin/serin	0,039	0,027	0,001** <sup>1</sup>	0,036	0,030	0,968 <sup>2</sup>
glycin (μmol/l)	173,4	238,5	0,0001*** <sup>2</sup>	182,5	188,9	0,382 <sup>2</sup>
glycin/serin	2,03	2,28	0,454 <sup>3</sup>	2,04	2,05	0,637 <sup>2</sup>

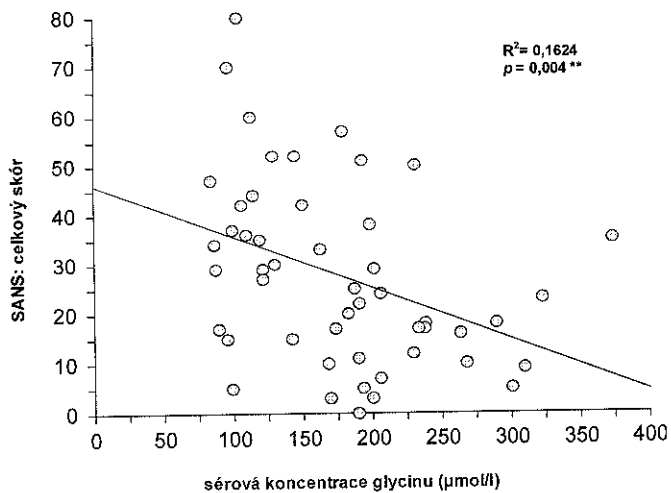
**Graf 1:** Sérová koncentrace glycinu - srovnání skupiny zdravých dobrovolníků a skupiny nemocných schizofrenií (krabičkový graf; \*\*\*  $p < 0,001$ ).



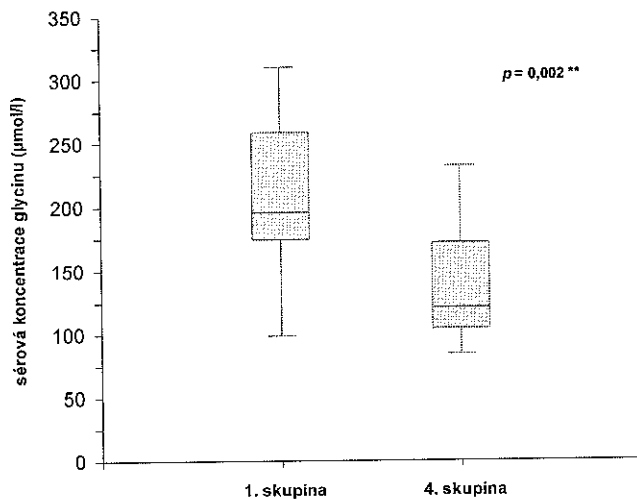
**Graf 2:** Vztah sérové koncentrace glycinu a skóru subskály N1-N7 PANSS u skupiny nemocných schizofrenií (bodový graf s regresní přímkou;  $R^2$ , koeficient determinace; \*\*  $p < 0,01$ ).



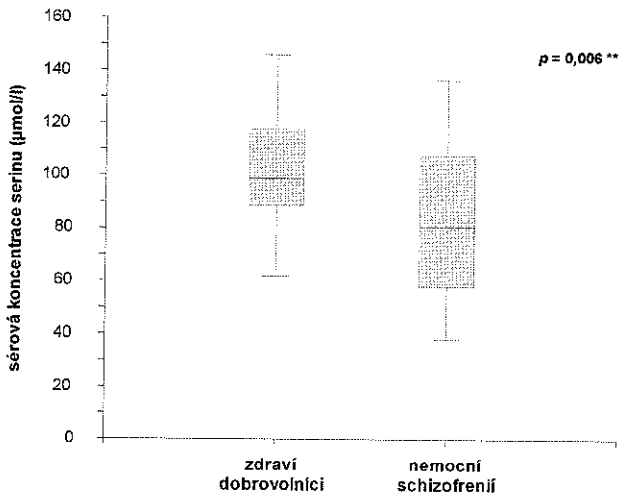
**Graf 3:** Vztah sérové koncentrace glycinu a celkového skóru SANS u skupiny nemocných schizofrenií (bodový graf s regresní přímkou;  $R^2$ , koeficient determinace; \*\*  $p < 0,01$  ).



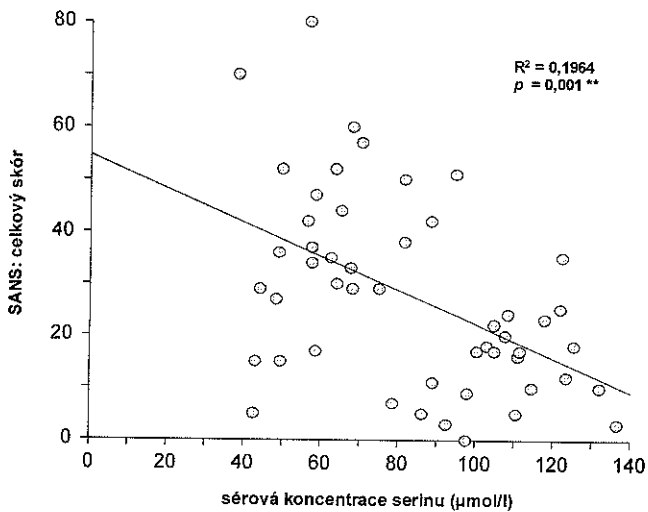
**Graf 4:** Sérová koncentrace glycinu - srovnání 1. a 4. skupiny nemocných schizofrenií rozdělené dle hodnoty celkového skóru SANS (krabíčkový graf; \*\*  $p < 0,01$ ).



**Graf 5:** Sérová koncentrace serinu - srovnání skupiny zdravých dobrovolníků a skupiny nemocných schizofrenií (krabičkový graf; \*\*  $p < 0,01$ ).



**Graf 6:** Vztah sérové koncentrace serinu a celkového skóru SANS u skupiny nemocných schizofrenií (bodový graf s regresní přímkou;  $R^2$ , koeficient determinace; \*\*  $p < 0,01$ ).



## Diskuze

U souboru 50 ambulantně léčených nemocných schizofrenií jsme ve srovnání s věkově a pohlavím zpárovaným souborem 50 zdravých dobrovolníků nezjistili rozdíl v hodnotě sérové koncentrace D-serinu. Nepotvrdili jsme tak náš předpoklad laboratorně detekovatelné změny sérové koncentrace D-serinu u schizofrenie (hypotéza 1). U nemocných jsme naopak našli sníženou sérovou koncentraci serinu a vyšší hodnotu poměru D-serin/serin. Nepodařilo se tedy potvrdit výsledky předešlých studií, ve kterých byla v rozporu s našimi nálezy u nemocných schizofrenií zjištěna snížená sérová koncentrace D-serinu [13, 53], zvýšená koncentrace serinu a nižší procentuální zastoupení D-serinu v serinu [13]. U nemocných jsme nezaznamenali předpokládaný inverzní vztah mezi hodnotou sérové koncentrace D-serinu a intenzitou negativních příznaků (hypotéza 3). Sérová koncentrace D-serinu nesouvisela ani s intenzitou pozitivních příznaků.

S intenzitou negativních příznaků naopak negativně asociovala hodnota sérové koncentrace serinu. Přítomnost výraznější negativní symptomatiky tak byla u nemocných spojena s nižší koncentrací serinu a vyšším podílem D-serinu v serinu v krevním séru. Tento nález nebyl zatím v literatuře publikován a mohl by souviset s účinky agonistů NMDA receptoru na negativní příznaky [7, 21, 43, 45].

V klinických studiích byly ve srovnání s nepsychotickými nemocnými nebo zdravými subjekty u nemocných s psychózou [47, 48, 49, 50] a později také u nemocných schizofrenií [2, 31, 40] zjištěny vyšší plazmatické koncentrace serinu a nižší plazmatická aktivita serinhydroxymetyltransferázy [48, 49, 50]. V některých studiích však nebyly rozdíly v koncentraci serinu mezi nemocnými schizofrenií a zdravými subjekty zaznamenány ani v plazmě [5, 33, 35] ani v mozkomíšním moku [35]. Snížená sérová koncentrace serinu, která je v soulase s naším nálezem, byla zjištěna jen když byla studována u skupiny nemocných s rezistentní schizofrenií [42].

Ve srovnání s nemocnými muži jsme u nemocných žen našli nevýznamně nižší hodnoty sérové koncentrace D-serinu, které asociovaly s intenzitou psychopatologie negativně. Korelace těchto proměnných byly ale jen slabé a statisticky nevýznamné, stejně tak jako vztah sérových koncentrací D-serinu a intenzity psychopatologie u mužů. Nález rozdílu sérových koncentrací D-serinu u nemocných schizofrenií nebo u zdravých subjektů ve vztahu k pohlaví nebyl zatím literatuře publikován. Pohlavní rozdíly v hodnotách sérových koncentrací aminokyselin by mohly být způsobeny pohlavními odlišnostmi hormonálních profilů. Při srovnání hodnot sérových koncentrací serinu a glycinu jsme pohlavní rozdíly ve skupině



nemocných schizofrenií ani ve skupině zdravých dobrovolníků nezaznamenali. V našem souboru se nám tak nepodařilo replikovat nález zvýšené sérové koncentrace serinu u mužů nemocných schizofrenií [41]. Při srovnání skupin nemocných a zdravých žen jsme nezjistili rozdíly v hodnotách sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu. Nemocní muži měli ve srovnání se zdravými muži významně nižší sérovou koncentraci serinu, glycinu a vyšší podíl D-serinu v celkovém serinu. Pohlavní rozdíly markerů glutamatergní neurotransmise u schizofrenie jsou tak zajímavým tématem pro další výzkum.

Vztah mezi sérovou koncentrací D-serinu a dysfunkcí glutamatergní neurotransmise jako patogenetického faktoru schizofrenie předpokládá souvislost mezi „poolem“ D-serinu v mozku a v periferních tkáních. Také klinický účinek adjuvantní léčby D-serinem na schizofrenní příznaky u nemocných léčených antipsychotiky [21, 43] musí být spojen s průchodem periferně podaného D-serinu přes hematoencefalickou bariéru (HEB). V CNS je endogenní D-serin syntetizován výlučně v astrocytech šedé hmoty mozkové [36, 37, 51]. V nízkých koncentracích se ale D-serin vyskytuje i v krevním séru, slinách a moči a jeho syntéza může u savců probíhat v periferních tkáních [11]. Pravděpodobný periferní zdroj D-serinu jsou játra, protože jen v hepatocytech byla zjištěna významná koncentrace serinracemázy [38]. Mechanizmy transportu D-serinu přes HEB ale nebyly dosud objasněny. Transport neutrálních aminokyselin přes HEB je limitován. U D-serinu byl však prokázán preferenční stereoselektivní transport [3]. D-serin prochází přes HEB lépe než glycin [34, 43, 52] a ve větším množství proniká do mozku i ve srovnání s L-serinem. Souvislost mezi „poolem“ D-serinu v periférii a v CNS a možnost transportu přes HEB potvrzují výsledky studií na hlodavcích. Po intraperitoneálním podání D-serinu dochází u kryse ke změnám hladin D-serinu ve všech periferních tkáních a ve všech oblastech CNS [12]. Je tedy velmi pravděpodobné, že existuje přímý vztah mezi koncentrací D-serinu v krevním séru a v CNS. Sérová hladina D-serinu tak může být vhodným periferním markerem funkční úrovně glutamatergní neurotransmise v CNS.

U souboru 50 nemocných schizofrenií jsme ve srovnání se zdravými dobrovolníky zjistili nižší sérovou koncentraci glycinu a potvrdili jsme tak náš předpoklad (hypotéza 2). Tento výsledek je v soulase s nálezy nižších koncentrací glycinu v krevní plazmě u nemocných schizofrenií [33, 40] a mohl by svědčit pro změnu metabolismu glycinu u schizofrenie. Hodnota sérové koncentrace glycinu u nemocných v našem souboru negativně asociovala s intenzitou negativních příznaků. Potvrdili jsme tak náš předpoklad, že přítomnost výraznější negativní symptomatiky bude u nemocných spojena s nižší koncentrací glycinu v krevním séru (hypotéza 4). Souvislost nižší koncentrace glycinu s vyšší intenzitou

negativních příznaků byla naznačena ve výsledcích některých klinických studií [10, 17, 33, 40]. V naší studii jsme u nemocných ve srovnání se zdravými dobrovolníky nezaznamenali rozdíly v hodnotě poměru sérové koncentrace glycinu a serinu. Nepodařilo se nám tak replikovat dříve publikované nálezy nižší hodnoty poměru glycin/serin v krevní plazmě u schizofrenie [33, 40]. Také vztah mezi sérovou koncentrací glycinu a dysfunkcí glutamatergní neurotransmise jako patogenetického faktoru schizofrenie předpokládá souvislost mezi „poolem“ glycinu v mozku a v periferních tkáních. Klinický účinek adjuvantní léčby glycinem [20, 23, 24] úzce souvisí s transportem glycinu přes HEB. Přestože glycin proniká HEB hůře než D-serin [34, 43, 52], také periferní podání glycinu vede ke zvýšení koncentrace glycinu v mozkomíšním moku [15].

Nálezy sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu v klinických studiích nejsou u nemocných schizofrenií jednotné. Může to být způsobeno malými soubory nebo rozdíly v charakteristikách populací nemocných, rozdíly ve vlivu účinků antipsychotické medikace, dietních návyků nebo rozdílnými metodami stanovení sérových koncentrací excitačních aminokyselin. Jen do dvou studií bylo ve srovnání s naším souborem zařazeno více nemocných schizofrenií [33, 40], soubory v ostatních studiích byly menší. Do naší klinické studie byli zařazeni 50 nemocných v ambulantní péči, kteří byli léčeni převážně antipsychotiky 2. generace a z klinického hlediska byli ve stabilním stavu nevyžadujícím hospitalizaci. V kontrastu s našimi nálezy byly vyšší sérové koncentrace serinu prokázány u populace antipsychotiky neléčených hospitalizovaných a nehospitalizovaných nemocných [40] a také u populace akutně hospitalizovaných nemocných léčených antipsychotiky 1. a 2. generace [2]. Hashimoto rozdíly v sérových koncentracích D-serinu a serinu mezi skupinou antipsychotiky léčených a neléčených nemocných schizofrenií nezjistil [13]. V soulase s našimi výsledky také nenalezl souvislost sérové koncentrace D-serinu a serinu s dávkou antipsychotika vyjádřenou chlorpromazinovým ekvivalentem [13]. Nález snížení sérové koncentrace serinu po léčbě antipsychotiky 1. generace byl ale již publikován [40] a vliv farmakoterapie na naše výsledky nelze vyloučit.

Přestože nebyl u nemocných schizofrenií prokázán vliv lačnění na plazmatickou koncentraci glycinu a serinu [5], může být koncentrace aminokyselin v krevním séru ovlivněna příjmem aminokyselin obsažených v potravě [8]. V některých klinických studiích byla ke stanovení sérových koncentrací aminokyselin od subjektů odebrána krev nalačno po předchozí speciální dietě [2, 42]. V jiných studiích odběru nalačno žádná dietní opatření nepředcházela [13, 33]. V naší studii jsme vzorek krve odebírali ráno po nočním 12 hodinovém lačnění. Průměrné sérové koncentrace D-serinu u nemocných a zdravých

v naší studii byly ve srovnání s hodnotami zjištěnými stejnou metodou (HPLC), bez předchozí speciální diety a v podobně velkém souboru nemocných a kontrol [13] nižší. Při srovnání s koncentracemi zjištěnými u nemocných po předchozí speciální dietě [2, 42] byla u našich nemocných nižší také průměrná koncentrace glycinu a serinu. Průměrné hodnoty sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu se v naší studii u skupiny nemocných schizofrenií a skupiny zdravých dobrovolníků pohybovaly v mezích laboratorních referenčních hodnot [33].

Další příčinou nekonzistentních výsledků může být rozdílná metodika stanovení sérových koncentrací aminokyselin. Senzitivita metody stanovení může být důležitá zejména u D-serinu, jehož fyziologické koncentrace jsou v séru u zdravých lidí velmi nízké. V publikovaných klinických studiích byla ke stanovení plazmatické koncentrace serinu použita plynová chromatografie [49], ionexová chromatografie [33, 35], plynová chromatografie a hmotnostní spektrometrie [2] a vysokotlaková kapalinová chromatografie [5, 49]. V naší studii jsme stanovovali sérové koncentrace aminokyselin pomocí vysokovýkonné kapalinové chromatografie (HPLC) stejně tak jako ve studiích, jejichž výsledky jsou v rozporu s našimi nálezy [13, 40, 53]. Naš nález nižší koncentrace serinu u nemocných schizofrenií při použití stejné metodiky HPLC koresponduje jen s výsledkem studie Tortorelly [42].

## Závěr

V této práci jsme se snažili u nemocných schizofrenií prokázat souvislost sérových koncentrací D-serinu a glycinu, potencionálních biochemických markerů glutamatergní dysfunkce v CNS, s přítomností a intenzitou negativních příznaků. U nemocných jsme potvrdili hypotézu negativní asociace sérové koncentrace glycinu s intenzitou negativních příznaků. Sérová koncentrace glycinu byla u nemocných ve srovnání se zdravými subjekty nižší. U nemocných jsme ale nenalezli vztah mezi sérovou koncentrací D-serinu a intenzitou negativních příznaků ani přítomnost nižší sérové koncentrace D-serinu ve srovnání se zdravými subjekty. U nemocných byl vyšší podíl D-serinu v serinu při nižší hodnotě sérové koncentrace serinu, která negativně asociovala s intenzitou negativních příznaků. Tento nález je v rozporu s výsledky většiny dosud publikovaných studií a může souviset s odlišnou laboratorní metodikou nebo rozdílnou populací nemocných. Lze ho však dát do souvislosti s účinky agonistů NMDA receptoru na negativní příznaky.

Objasnění rozdílů v nálezech sérových koncentrací D-serinu, serinu a glycinu má u nemocných schizofrenií velký praktický význam vzhledem k perspektivě léčby agonisty NMDA receptorů. Pro poznání role dysfunkce glutamatergního systému v patogenezi schizofrenie je důležité stanovení biochemických markerů funkční úrovně tohoto systému v CNS. Hledání vztahu sérových koncentrací excitačních aminokyselin ke specifickým psychopatologickým dimenzím umožní laboratorní a klinickou diferenciaci schizofrenních psychóz. Předpokládáme, že stanovení biochemických a klinických profilů povede k identifikaci specifických subtypů schizofrenie. Formulování takové typologie umožní cílenou léčbu na ovlivnění glutamatergní dysfunkce v CNS. Výsledky naší studie posilují význam stanovení sérové koncentrace glycinu při hledání subtypu schizofrenního onemocnění s převahou negativních příznaků.

## Literatura

1. Andreasen NC. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): conceptual and theoretical foundations. *Br J Psychiat* 1989; (Suppl 7):49-58.
2. Baruah S, Waziri R, Hegwood TS, Mallis LM. Plasma serine in schizophrenics and controls measured by gas chromatography-mass spectometry. *Psychiatry Res* 1991; 37:261-270.
3. Bauer D, Hamacher K, Bröer S, Pauleit D, Palm C, Zilles K, Coenen HH, Langen KJ. Preferred stereoselective brain uptake of D-serine - a modulator of glutamatergic neurotransmission. *Nucl Med Biol* 2005; 32(8):793-797.
4. Bendikov I, Nadri C, Amar S, Panizzutti R, De Miranda J, Wolosker H, Agam G. A CSF and postmortem brain study of D-serine metabolic parameters in schizophrenia. *Schizophr Res* 2007; 90(1-3):41-51.
5. Carl GF, Brogan MP, Young BK. Is plasma serine a marker for psychosis? *Biol Psychiatry* 1992; 31:1130-1135.
6. Evins AE, Fitzgerald SM, Wine L, Rosselli R, Goff DC. Placebo-controlled trial of glycine added to clozapine in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2000; 157:826-828.
7. Evins AE, Amico E, Posever TA, Toker R, Goff DC. D-cycloserine added to risperidone in patients with primary negative symptoms of schizophrenia. *Schizophr Res* 2002; 56(1-2):19-23.
8. Friedman M. Chemistry, nutrition, and microbiology of D-amino acids. *J Agric Food Chem* 1999; 47:3457-3479.
9. Goff DC, Tsai G, Manoach DS, Coyle JT. A dose-finding trial of D-cycloserine added to neuroleptic for negative symptoms in schizophrenia. *Am J Psychiat* 1995; 152:1213-1215.
10. Goff DC, Tsai G, Manoach DS, Flood J, Darby DG, Coyle JT. D-cycloserine added to clozapine for patients with schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1996; 153(12): 1628-1630.
11. Hashimoto A, Oka T. Free D-aspartate and D-serine in the mammalian brain and periphery. *Prog in Neurobiol* 1997; 52:325-353.
12. Hashimoto A, Chiba Y. Effect of systemic administration of D-serine on the levels of D- and L-serine in several brain areas and periphery of rat. *Eur J Pharmacol* 2004; 495(2-3):153-158.
13. Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Hasegawa H, Imai K, Iyo M. Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiat* 2003; 60(6):572-576.

14. Hashimoto K, Engberg G, Shimizu E, Nordin C, Lindstrom LH, Iyo M. Reduced D-serine to total serine ratio in the cerebrospinal fluid of drug naive schizophrenic patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiat* 2005; 29(5):767-769.
15. Henderson G, Johnson JW, Ascher P. Competitive antagonists and partial agonists at the glycine modulatory site of the mouse N-methyl-D-aspartate receptor. *J Physiol (Lond)* 1990; 430:189-212.
16. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Mordel C, Horowitz A, Kelly D. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of glycine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Br J Psychiatry* 1996; 169:610-617.
17. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Silipo G, Shimoni J. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of D-cycloserine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 1998; 1(2): 131-135.
18. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ermilov M, Mordel C, Silipo G, Lichtenstein M. Efficacy of high-dose glycine in the treatment of enduring negative symptoms of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56(1):29-36.
19. Heresco-Levy U, Ermilov M, Shimoni J, Shapira B, Silipo G, Javitt DC. Placebo-controlled trial of D-cycloserine added to conventional neuroleptics, olanzapine, or risperidone in schizophrenia. *Am J Psychiat* 2002; 159(3):480-482.
20. Heresco-Levy U, Javitt DC. Comparative effects of glycine and D-cycloserine on persistent negative symptoms in schizophrenia: a retrospective analysis. *Schizophr Res* 2004; 66(2-3):89-96.
21. Heresco-Levy U, Javitt DC, Ebstein R, Vass A, Lichtenberg P, Bar G, Catinari S, Ermilov M. D-serine efficacy as add-on pharmacotherapy to risperidone and olanzapine for treatment-refractory schizophrenia. *Biol Psychiat* 2005; 57(6): 577-585.
22. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiat* 1991; 148:1301-1308.
23. Javitt DC, Zylberman I, Zukin SR, Heresco-Levy U, Lindenmayer JP. Amelioration of negative symptoms in schizophrenia by glycine. *Am J Psychiat* 1994; 151: 1234-1236.
24. Javitt DC, Silipo G, Cienfuegos A, Shelley AM, Bark N, Park M, Lindenmayer JP, Suckow R, Zukin SR. Adjunctive high-dose glycine in the treatment of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol* 2001; 4(4):385-391.
25. Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull* 1987; 13(2):261-276.

26. Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Charney DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiat* 1994; 51:199-214.
27. Krystal JH, Pery EB, Gueorguieva R, Belger A, Madonick SH, Abi-Dargham A, Cooper TB, MacDougall L, Abi-Saab W, D'Souza DC. Comparative and interactive human psychopharmacologic effects of ketamine and amphetamine: implications for glutamatergic and dopaminergic model psychoses and cognitive function. *Arch Gen Psychiat* 2005; 62:985-995.
28. Kutlan D, Presits P, Molnar-Perl I. Behavior and characteristics of amine derivatives obtained with o-phthalaldehyde/3-mercaptopropionic acid and with o-phthalaldehyde/N-acetyl-cysteine reagents. *J Chromatogr A* 2002; 949:235-248.
29. Kutlan D, Molnar-Perl I. New aspects of the simultaneous analysis of amino acids and amines as their o-phthalaldehyde derivatives by high-performance liquid chromatography. Analysis of wine, beer and vinegar. *J Chromatogr A* 2003; 987: 311-322.
30. Lane H, Chang Y, Liu Y, Chiu Ch, Tsai G. Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia. *Arch Gen Psychiat* 2005; 62:1196-1204.
31. Macciardi F, Lucca A, Catalano M, Marino C, Zanardi R, Smeraldi E. Amino acid patterns in schizophrenia: some new findings. *Psychiatry Res* 1990; 32:63-70.
32. Matsui T, Sekiguchi M, Hashimoto A, Tomita U, Nishikawa T, Wada K. Functional comparison of D-serine and glycine in rodents: the effect on cloned NMDA receptors and the extracellular concentration. *J Neurochem* 1995; 65:454-458.
33. Neeman G, Blararu M, Bloch B, Kremer I, Ermilov M, Javitt DC, Heresco-Levy U. Relation of Plasma Glycine, Serine, and Homocysteine Levels to Schizophrenia Symptoms nad Medication Type. *Am J Psychiat* 2005; 162:1738-1740.
34. Oldendorf WM. Brain uptake of radio labeled amino acids, amines and hexoses after arterial injection. *Am J Physiol* 1971; 221:1629-1639.
35. Perry TL, Hansen S. Interconversion of serine and glycine is normal in psychotic patients. *Psychiatry Res* 1985; 15:109-113.
36. Schell MJ, Molliver ME, Snyder SH. D-serine, an endogenous synaptic modulator: localization to astrocytes and glutamate-stimulated release. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(9):3948-3952.
37. Schell MJ, Brady RO, Molliver ME, Snyder SH. D-serine as a neuromodulator: regional and developmental localizations in rat brain glia resemble NMDA receptors. *J Neurosci* 1997; 17:1604-1615.

38. Schell MJ. The N-methyl-D-aspartate receptor glycine site and D-serine metabolism: an evolutionary perspective. *Phil Trans R Soc Lond B* 2004; 359:943-964.
39. Scolari MJ, Acosta GB. D-serine: a new word in the glutamatergic neuro-glial language. *Amino Acids* 2007; 33:563-574.
40. Sumiyoshi T, Anil AE, Jin D, Jayathilake K, Lee M, Meltzer HY. Plasma glycine and serine levels in schizophrenia compared to normal controls and major depression: relation to negative symptoms. *Int J Neuropsychopharmacol* 2004; 7(1):1-8.
41. Tomiya M, Fukushima T, Watanabe H, Fukami G, Fujisaki M, Iyo M, Hashimoto K, Mitsuhashi S, Toyo'oka T. Alterations in serum amino acid concentrations in male and female schizophrenic patients. *Clin Chim Act* 2007; 380:186-190.
42. Tortorella A, Monteleone P, Fabrazzo M, Viggiano A, De Luca L, Maj M. Plasma Concentrations of Amino Acids in Chronic Schizophrenics Treated with Clozapine. *Neuropsychobiology* 2001; 44:167-171.
43. Tsai G, Yang P, Chung L, Lange N, Coyle JT. D-serine added to antipsychotics for treatment of schizophrenia. *Biol Psychiat* 1998; 44(11):1081-1089.
44. Tsai G, Yang P, Chung L, Tsai I, Tsai Ch, Coyle JT. D-serine added to clozapine for the treatment of schizophrenia. *Am J Psychiat* 1999; 156:1822-1825.
45. Tuominen HJ, Tiihonen J, Wahlbeck K. Glutamatergic drugs for schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res* 2005; 72:225-234.
46. Vasanits A, Kutlan D, Sass P, Molnar-Perl I. Retention/quantification properties of the o-phthalaldehyde-3-mercaptpropionic acid and the o-phthalaldehyde-N-acetyl-L-cysteine amino acid derivatives in reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr A* 2000; 870:271-287.
47. Waziri R, Wilson R, Sherman AD. Plasma serine to cysteine ratio as a biological marker for psychosis. *Br J Psychiatry* 1983; 143:69-73.
48. Waziri R, Mott J, Wilcox J. Differentiation of psychotic from nonpsychotic depression by a biological marker. *J Affective Disord* 1985; 9:175-180.
49. Waziri R, Mott J. Drug effects on serine metabolism in psychiatric patients. *Psychiatry Res* 1986; 18:119-126.
50. Wilcox J, Waziri R, Sherman A, Mott J. Metabolism of an ingested serine load in psychotic and nonpsychotic subjects. *Biol Psychiatry* 1985; 20:41-49.
51. Wolosker H, Blackshaw S, Snyder SH. Serine racemase: a glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:13409-13414.
52. Wolosker H, Panizzutti R, De Miranda J. Neurobiology through the looking-glass: D-serine is a new glial-derived transmitter. *Neurochem Internat* 2002; 41(5):327-332.



53. Yamada K, Ohnishi T, Hashimoto K, Ohba H, Iwayama-Shigeno Y, Toyoshima M, Okuno A, Takao H, Toyota T, Minabe Y, Nakamura K, Shimizu E, Itokawa M, Mori N, Iyo M, Yoshikawa T. Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol Psychiat* 2005; 57:1493-1503.
54. Yamamoto N, Tomita U, Umino A, Nishikawa T. Uptake of D-serine by synaptosomal P2 fraction isolated from rat brain. *Synapse* 2001; 42(2):84-86.
55. Zhao M, Bada JL. Determination of  $\alpha$ -dialkylamino acids and their enantiomers in geological samples by high-performance liquid chromatography after derivatization with chiral adduct of o-phthaldialdehyde. *J Chromatogr A* 1995; 690:55-63.

## Seznam publikací doktoranda

### 1. Původní články a statě ve sbornících:

- ✓ **Hons J,** Žirko R, Ulrychova M, Cermakova E, Libiger J. D-serine serum levels in patients with schizoprenia: relation to psychopathology and comparison to healthy subjects. – 16.6. 2008 přijat k publikaci v časopise Neuroendocrinology Letters (**IF 0,924**).
- ✓ **Hons J,** Žirko R, Ulrychová M, Čermáková E, Libiger J. Vztah sérové koncentrace D-serinu a psychopatologie u schizofrenie. – 22.5. 2008 přijat k publikaci v časopise Česká a slovenská psychiatrie.  
  
Slanina M., Žižka J., Klzo L., Novotný J., Ryška P., Špriňar Z., **Hons J.**, Šenkeřík M., Kunc P. Osmotický demyelinizační syndrom – diagnostika magnetickou rezonancí: kazuistika. Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie 2007; 70/103(3):322-327. (**IF 0,045**)
- ✓ **Hons J,** Tůma I. Psychiatrická péče v Belgii. Čes. a slov. Psychiat., 98, 2002, No. 7, pp. 408-412.

### 2. Přehledové články:

- ✓ **Hons J.** Nové možnosti farmakologického ovlivnění glutamatergního systému u schizofrenie. Čes. a slov. Psychiat., 102, 2006, No.2, pp. 85-90.
- ✓ **Hons J.** Glutamatergní neurotransmise a její role v patofyziologii schizofrenie. Čes. a slov. Psychiat., 100, 2004, No.4, pp. 220-228.

### 3. Abstrakta:

**Hons J,** Žirko R, Ulrychová M, Čermáková E, Libiger J. Porucha metabolismu glycinu v patogenezi negativních příznaků schizofrenie. In Raboch et al. Quo vadis psychiatria. Galén 2008 (sborník abstrakt VII. sjezdu České psychiatrické společnosti s mezinárodní účastí): 42-44.

**Hons J,** Libiger J, Žirko R., Ulrychova M. D-serine serum level in schizoprenia: relation to psychopathology. New Research Abstracts, American Psychiatric Association 2008 Annual Meeting:178-179.

**Hons J,** Žirko R, Bazant J, Ulrychova M, Vavrova J, Cermakova E, Libiger J. D-serine serum level – a marker of glutamatergic dysfunction in schizoprenia. European Psychiatry 2008; 23 (Suppl. 2):120. (**IF 1,463**)

**Hons J.,** Žirko R., Bažant J., Ulrychová M., Vávrová J., Čermáková E. Kognitivní dysfunkce a D-serin u schizofrenie. Psychiatrie 2008; Suppl. 1:30

**Hons J,** Žirko R, Libiger J, Ulrychová M, Vávrová J. Hladina D-serinu v krevním séru – marker glutamatergní dysfunkce u schizofrenie (pilotní studie). In Raboch et al. Nemocná duše-nemocný mozek: klinická zkušenost a fakta. Galén 2006 (sborník abstrakt VI. sjezdu České psychiatrické společnosti s mezinárodní účastí): 48-49.

**Hons J.** Neurotransmise zprostředkovaná NMDA receptorem a její úloha v patofyziologii schizofrenie. *Psychiatrie* 2002; Suppl. 1:16-17.

**Hons J.** Schizofrenie a dysfunkce glutamatergí neurotransmise. *Psychiatrie* 2001; Suppl. 2: 42-43.

*A. Prezentace na kongresech a sympóziích:*

*celkem 6 publikací*

*1. autor 5 publikací*

*1F*

*2 publikace*

orucha metabolismu glycinu  
ské psychiatrické společnosti

ková E. Kognitivní dysfunkce  
farmakologická konference,

Vávrová J., Čermáková E.  
česko-slovenský psychiatrický

rmáková E. Hladina D-serinu  
izofrenie - výsledky studie.  
(6. 2007)

ní glutamatergí dysfunkce  
(4. 2006)

**Hons J, Zírko R, Libiger J, Ulrychova M, Vavrova J.** Hladina D-serinu v krevním séru – marker glutamatergí dysfunkce u schizofrenie (pilotní studie). (VI. sjezd České psychiatrické společnosti s mezinárodní účastí, Špindlerův Mlýn, 9.6. 2006)

**Hons J, Zírko R, Libiger J, Ulrychová M, Vávrová J.** Hladiny excitačních aminokyselin v krevním séru u pacientů se schizofrenií. (Vědecká schůze Psychiatrické společnosti ČLS JEP, Praha, 1.11. 2006)

**Hons J.** Glutamát a schizofrenie. (Regionální psychiatrický seminář, Černá hora, 13.10. 2000)

*formou posteru:*

**Hons J, Libiger J, Zírko R., Ulrychova M.** D-serine serum level in schizophrenia: relation to psychopathology. (161st APA Annual Meeting, 6.5. 2008, Washington, USA)

**Hons J, Zírko R, Bazant J, Ulrychova M, Vavrova J, Cermakova E, Libiger J.** D-serine serum level – a marker of glutamatergic dysfunction in schizophrenia. (16th European Congress of Psychiatry, 6.4. 2008, Nice, France)

**Hons J.** Farmakologické ovlivnění glutamatergní dysfunkce v terapii schizofrenie. (Regionální psychiatrický seminář v Černém Dole, duben 2002. IV. sjezd České psychiatrické společnosti, Špindlerův Mlýn, 14.6. 2002).

**Hons J.** Neurotransmise zprostředkovaná NMDA receptorem a její úloha v patofyziologii schizofrenie. (44.česko-slovenská psychofarmakologická konference, Lázně Jeseník, 6.1. 2002).