



**Univerzita Karlova
3. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce

Elektroencefalografické změny v animálním serotonergním modelu psychózy –
studium EEG konektivity ve vztahu k chování

MUDr. Filip Tylš

Praha 2016

Doktorské studijní programy v biomedicině

*Univerzita Karlova
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. Filip Tylš.....

Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD.....

Oponenti:

.....
.....

Autoreferát byl rozeslán dne:

Obhajoba se koná dne: v hod.

kde

.....

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

SOUHRN

Předkládaná práce se zabývá elektrofyziologickými a behaviorálními korelátů účinku serotonergních psychedelik v rámci animálního modelu psychózy. V obecné části je popsána fenomenologie a neurobiologie psychotických onemocnění a změněných stavů vědomí způsobených intoxikací serotonergními psychedeliky. Dále se práce věnuje přehledu farmakologických modelů akutní psychózy se zaměřením na serotonergní látky, zejména pak aktivní látky z halucinogenních hub – indolamin psilocybin a jeho aktivní metabolit psilocin. Ve stručnosti je přiblížena je metoda kvantitativní elektrofyziologie (QEEG) a shrnuty hlavní nálezy v QEEG u zvířat i lidí způsobených intoxikací serotonergními psychedeliky. Vlastní experimentální část práce popisuje farmakokinetiku psilocinu, jeho vliv na behaviorální vzorec, lokomoci a sensorimotorické zpracování informace a také pohlavní rozdíly v behaviorální odpovědi. Psilocin vedl k atypickým behaviorálním figurám, snížení lokomoce a narušení sensorimotorického zpracování informace ve střední dávce, přičemž samice byli k těmto účinkům rezistentnější. Dále se zaměřuje na dynamiku QEEG změn v čase (EEG absolutní výkonová spektra a EEG koherence) snímané z kůry mozku volně se pohybujícího laboratorního potkana v průběhu behaviorální inaktivity vyvolané intoxikací psilocinem a dalšími serotonergními halucinogeny. Všechny serotonergní halucinogeny vedly ke snížení absolutního spektrálního EEG výkonu a snížení EEG koherence s převahou v nižších frekvenčních pásmech. V případě psilocinu docházelo kromě celkového snížení EEG výkonu též lokálnímu zvýšení výkonu v oblasti theta a gama v temporo-parietálních oblastech. Klastrová analýza EEG konektivity po psilocinu našla 4 nezávislé konektivní sítě. Práce též popisuje mechanismy behaviorálních a QEEG změn s využitím selektivních antagonistů serotoninových receptorů (5HT1A, 5HT2A, 5HT2B, 5HT2C) a hlavních zástupců antipsychotik (klozapin a haloperidol). Selektivní antagonisté 5HT receptorů se významně podílí na psychedelickém účinku těchto látek (hypolokoční účinek, absolutní EEG výkon, EEG koherence). Antipsychotika upravují absolutní EEG výkon, nevedou však k normalizaci EEG diskonekce indukované psilocinem. Poslední část práce naznačuje translační validitu animálního modelu psychózy navozené psilocinem díky srovnání animálních dat s dobrovolníky pod vlivem psilocibinu – popisuje shodně snížení základní aktivity a diskonekci, na druhou stranu rozdíly v oblasti vyšších frekvenčních pásmem.

Klíčová slova: Serotonergní halucinogeny / psychedelika, psilocybin, psilocin, schizofrenie, změněné stavy vědomí, model akutní psychózy, fenomenologie, kvantitativní EEG.

SUMMARY

The present thesis deals with the electrophysiological and behavioral correlates of the effects of serotonergic psychedelics in an animal model of psychosis. In the general part, we describe the phenomenology and neurobiology of psychotic diseases and the altered states of consciousness induced by serotonergic psychedelics. Furthermore, we outline the pharmacological models of acute psychosis with a focus on serotonergic substances, particularly the active substances from hallucinogenic mushroom – the indolamine psilocybin and its active metabolite psilocin. We briefly explain the method of quantitative electroencephalography (QEEG) and summarize the main findings of QEEG in animals and humans intoxicated by serotonergic psychedelics. The experimental part of the thesis describes the pharmacokinetics of psilocin, its effects on the behavioral pattern, locomotion and sensorimotor processing of information, as well as sex differences in the behavioral response. A medium dose of psilocin caused atypical behavioral figures, decreased locomotion and disturbance in sensorimotor processing of information, with the females being more resistant to this effect. Another focus of the thesis is the dynamics of QEEG changes in time (EEG absolute power spectra and EEG coherences), as recorded from the cortex of freely moving laboratory brown rats during behavioral inactivity resulting from intoxication by psilocin and other serotonergic hallucinogens. All serotonergic hallucinogens caused a decrease in the absolute EEG spectral power and a decrease in EEG coherences, more prominent in the lower frequency bands. Psilocin, apart from an overall decrease of EEG power, also effected a local increase of power in the theta and gamma bands in the temporoparietal region. Cluster analysis of EEG connectivity after psilocin found 4 independent connective networks. The thesis also describes the mechanisms of behavioral and QEEG changes using selective antagonists of serotonin receptors (5HT1A, 5HT2A, 5HT2B, 5HT2C) and certain antipsychotics (clozapine and haloperidol). Selective antagonists of 5HT receptors have a significant impact on the psychedelic effects induced by psychedelics (hypolocomotion, absolute EEG power, EEG coherences). Antipsychotics normalize absolute EEG power, but not psilocin-induced EEG disconnection. The final part of the thesis proposes the translational validity of the animal model of psilocin-induced psychosis by comparing animal data with data from human volunteers intoxicated by psilocybin, showing the same decrease in basal activity and disconnection. However, there are differences in the higher frequency bands.

Keywords: serotonergic hallucinogens, psychedelics, psilocybin, psilocin, schizophrenia, altered states of consciousness, model of acute psychosis, phenomenology, quantitative EEG.

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Hypotézy a cíle práce	7
3. Materiál a metodika.....	8
3.1. Experimentální zvířata a látky.....	8
3.2. Farmakokinetika.....	8
3.3. Behaviorální aktivita	8
3.4. Kvantitativní EEG (QEEG).....	8
3.5. Statistika	9
4. Souhrn výsledků	10
4.1 Farmakokinetika.....	10
4.2 Behaviorální parametry	10
4.3. QEEG	11
4.3.1. Vliv psilocinu a fyziologického roztoku na QEEG.....	11
4.3.2. Psilocin, LSD, mezkalin a DOB – porovnání dynamiky QEEG.....	14
4.3.3. Vliv 5HT antagonistů a antipsychotik na QEEG změny indukované psilocinem	15
4.3.4. Translační validita serotonergního modelu	17
5. Diskuse	18
5.1. Behaviorální data.....	18
5.2. QEEG data.....	19
6. Závěry.....	20
7. Použitá literatura	21
8. Seznam publikací autora	23

1. Úvod

Spektrum psychotických poruch je souborem onemocnění, z nichž nejzávažnější je schizofrenie. Obecně tato onemocnění charakterizuje narušený kontakt s realitou, psychopatologicky se jedná o poruchu na úrovni myšlení, vnímání, emotivity i kognice. Etiopatogeneze psychotických onemocnění není zcela známá, podílí se na ní narušení ve více úrovních od genetiky, vývojových poruch (neuroplasticita a synpatogeneze) až po komplexní poruchy neuronálních sítí (konektivita). Dnes existují 3 hlavní neurochemické teorie psychózy – dopaminergní, serotonergní a glutamátergní. Jsou postaveny na skutečnosti, že stimulanty (např. amfetamin, kokain), serotonergní halucinogeny (např. LSD a psilocybin) a disociativní anestetika (např. ketamin nebo fencyklidin) mohou indukovat některé symptomy psychóz (HoracekBubenikova-Valesova et al., 2006). Dnes máme za to, že podkladem psychotických onemocnění je dysbalance všech těchto neurotransmiterových systémů, nově se objevují též teorie o dysbalanci systému kanabinoidního. Schizofrenii lze pojímat také jako diskonekční syndrom (Friston, 1999). Nejtypičtějším nálezem u psychózy je fronto-temporální diskonekce (HoracekDockery et al., 2006), která může vysvětlit vznik příznaků prvního řádu, jako jsou sluchové halucinace (Ford a Mathalon, 2005). Novější koncepty chápou schizofrenii jako dysfunkci specifických funkčních celků mozku – 3 hlavních neuronálních sítí – defaultní sítě, centrální exekutivní síť a salientní síť (Nekovarova et al., 2014).

Studium farmakologicky navozených experimentálních psychóz / změněných stavů vědomí nám umožňuje poznat lépe neurobiologii psychotického stavu (z klinického hlediska umožňuje testování antipsychotik), ale i funkci mozku a podstatu našeho vědomí vůbec. Modelovat psychotické onemocnění můžeme na zdravých lidských subjektech i na jiných živočišných druzích včetně laboratorního potkana. Omezení animálních modelů jsou méně vyvinuté vyšší mozkové funkce, které psychóza jako typicky lidské onemocnění postihuje. K experimentálnímu navození akutní psychózy se používají látky různorodých psychofarmakologických skupin - dopaminergní (např. amfetamin, metamfetamin), serotonergní (LSD, psilocybin, mezkalin, DMT, nové syntetické preparáty jako např. 2C-B), glutamátergní (fencyklidin, ketamin, látka MK-801) a nově také kanabinoidy jako THC (delta-9-tetrahydrokannabinol). V poslední době nabývá na významu především psilocybin pro jeho optimální farmakologické vlastnosti a jeho terapeutický potenciál popsany řadou recentních vědeckých studií (Tyls et al., 2014; Tylš, 2015).

Vhodnou metodou pro studium změněných stavů vědomí a modelových psychóz je kvantitativní elektroencefalografie. Její výhodou je přímé měření elektrické aktivity neuronů a výborné časové rozlišení, naopak nevýhodou je horší prostorové rozlišení. Mozkové rytmy jsou určeny frekvencí a dělíme je do pásem: delta = 1–4 Hz; theta = 4–8 Hz; alfa = 8–12 Hz; beta = nad 12–30 Hz; gama = 30 – 40 Hz. Frekvence mozkových rytmů odpovídá charakteru zpracovávané informace – vyšší frekvence odpovídají kognitivním procesům, pozornosti a zpracovávání aktuálního dění v okolí organismu, nemají lineární dynamiku ani epicentrum, vznikají paralelní interakcí neuronálních populací a slouží k integraci informace (von der Malsburg a Schneider, 1986). Pomalé frekvence mají integrační, komplexnější charakter, jsou evolučně starší a hierarchicky výše postavené a podílí se na zpracování základnějších procesů (Başar a Bullock, 1992). U člověka je základní aktivitou bdělého mozku při zavřených očích aktivita alfa, která má maximum v okcipitálních oblastech. Pomalejší aktivity se objevují při

kolísání vigility a usínání (theta) a především v hlubokém spánku (delta), jindy mohou být známkou farmakogenního ovlivnění záznamu či nejrůznějších patologií. Beta aktivita je normální aktivita člověka při otevřených očích, je odrazem zaměřené pozornosti nebo stresu. Gama oscilace jsou korelátorem multisenzorické integrace a vyšších kognitivních procesů (tzv. „binding problem“ – problém vazby) a její patologie je jedním z charakteristických nálezů u psychózy (Kanayama et al., 2007; Lee et al., 2002). Někdy je gama frekvenčně spřažena s aktivitou theta (zejména hipokampální, tzv. theta-gama coupling) (Buzsáki a Wang, 2012). Naproti tomu základní aktivitou potkana je aktivita theta, vycházející z hipokampu a limbických oblastí, díky tomu, že v mozku potkana je hipokampus relativně velkou strukturou uloženou těsně pod tenkou parietální kůrou (Buzsáki, 1996). Theta aktivita hlodavců má vztah ke zpracování sensorické informace a řízení pohybů (Buzsáki, 2002). Pomalejší aktivita potkana (delta) značí sníženou vigilitu, přesná funkce vyšších oscilačních aktivit není přesně známá, ale přikládá se jí, podobně jako u člověka, integrační funkce.

V minulosti proběhla řada EEG studií na zvířatech i lidech s psychedelickými látkami (LSD, mezkalin, psilocybin), společným nálezem je narušení rytmicity, desynchronizace EEG záznamu. Většina animálních studií byla zaměřena na hodnocení konkrétní látky, studie porovnávací QEEG po intoxikaci různými psychedeliky byla provedena zatím pouze v naší laboratoři. V 60. letech proběhla studie s využitím hlubokých elektrod na lidských subjektech, kdy byly pozorovány vysokovoltážní výboje z pásma theta v limbických a paralimbických oblastech (Monroe a Heath, 1961). Tyto nálezy byly potvrzeny i v animálním modelu – psilocybin stejné změny indukoval u primátů (Horibe, 1974) a LSD indukovalo theta výboje v limbických oblastech koček (Adey et al., 1962). Moderní studie zaměřené na vliv psychedelik na změny v QEEG po užití ayahuasky zjistily snížení výkonu v pomalých pásmech (delta, theta) a nárůst gama aktivity (Don et al., 1998) či snížení absolutního výkonu ve všech frekvenčních pásmech s maximem v pásmu theta (Riba et al., 2002). Pro snížení elektrické oscilační aktivity indukované psychedeliky svědčí též data z MEG studie s psilocybinem (Muthukumaraswamy et al., 2013) a recentní nepublikovaná data z naší laboratoře (Tyls et al., 2012). V souladu s těmito QEEG nálezy bylo popsáno snížení průtoku krve mozkiem způsobené psilocybinem (Carhart-Harris et al., 2012), ale naopak zvýšený metabolismus ve fronto-temporálních oblastech (Vollenweider et al., 1997) (analogicky jako u pacientů s psychózou). Možné vysvětlení QEEG nálezů navrhnul dr. Carhart-Harris v hypotéze entropického mozku. Psychedelika podle tohoto konceptu způsobují nárůst chaosu (tzv. entropie) v mozkové aktivitě, což se odráží jak v lokální desynchronizaci neuronů, tak v rozpojení neuronálních sítí (Carhart-Harris et al., 2014).

2. Hypotézy a cíle práce

Cílem této disertační práce je charakterizovat a porovnat změny v chování a mozkové aktivitě laboratorního potkana pod vlivem různých serotonergních (5HT) psychedelik. Blíže jsem se zaměřil na agonistu 5HT_{1A}, 5HT_{2A} a 5HT_{2C} receptorů psilocin, u kterého jsem popsal neurobiologický podklad těchto změn. Dalším cílem práce bylo ověřit translační validitu animálního serotonergního modelu psychózy.

3. Materiál a metodika

3.1. Experimentální zvířata a látky

Použili jsme potkaní samce a samice kmene Wistar, pro jednotlivé farmakologické experimentální skupiny bylo použito 8-12 zvířat. Použili jsme následující psychedelika: LSD (v dávce 5, 50 a 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$), psilocin (0,25, 1 a 4 mg/kg), mezkalin (10, 20, a 100 mg/kg), DOB (5 mg/kg) a 2C-B (10, 20 a 100 mg/kg). Dále jsme použili selektivní antagonisty serotoninových receptorů 5HT1A – WAY100635 1 mg/kg , 5HT2A – MDL100907 0,5 mg/kg , 5HT2B – SB215505 1 mg/kg , 5HT2C – SB242084 1 mg/kg a antipsychotika klozapin 5 mg/kg a haloperidol 0,1 mg/kg . Všechny substance byly aplikovány subkutánně rozpuštěné v objemu 2 ml/1 kg hmotnosti zvířete.

3.2. Farmakokinetika

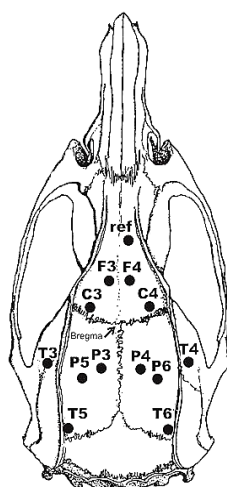
Pro stanovení farmakokinetiky psilocinu a psilocybinu byla zvířata šetrně usmrcena dekapitací v pravidelných odstupech od podání látek (0,5h, 1h, 2h, a 4h), přitom bylo odebráno sérum a posléze mozek. Byla stanovena koncentrace psilocinu pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS).

3.3. Behaviorální aktivita

Lokomoci zvířat jsme hodnotili v testu otevřeného pole, kdy zkušený experimentátor hodnotil další prvky chování zvířat. V testu propulzní inhibice jsme hodnotili motorickou odpověď potkanů po prezentaci akustických stimulů (120 dB) na pozadí šumu (62 dB) v různém sekvenčním uspořádání, kdy před některé pulzy je předřazen těsně nadprahový prepulz. Byla vypočtena prepulzní inhibice (PPI) jako procentuální snížení motorické odpovědi následující pulz oproti sekvenci prepulz-pulz.

3.4. Kvantitativní EEG (QEEG)

Experimentální zvířatům bylo stereotakticky implantováno 12 aktivních a 1 referenční elektroda v celkové isofluranové anestezii. Elektrody byly na lebku potkana fixovány dentálním cementem. Koordináty pro umístění elektrod viz obr. 1.:

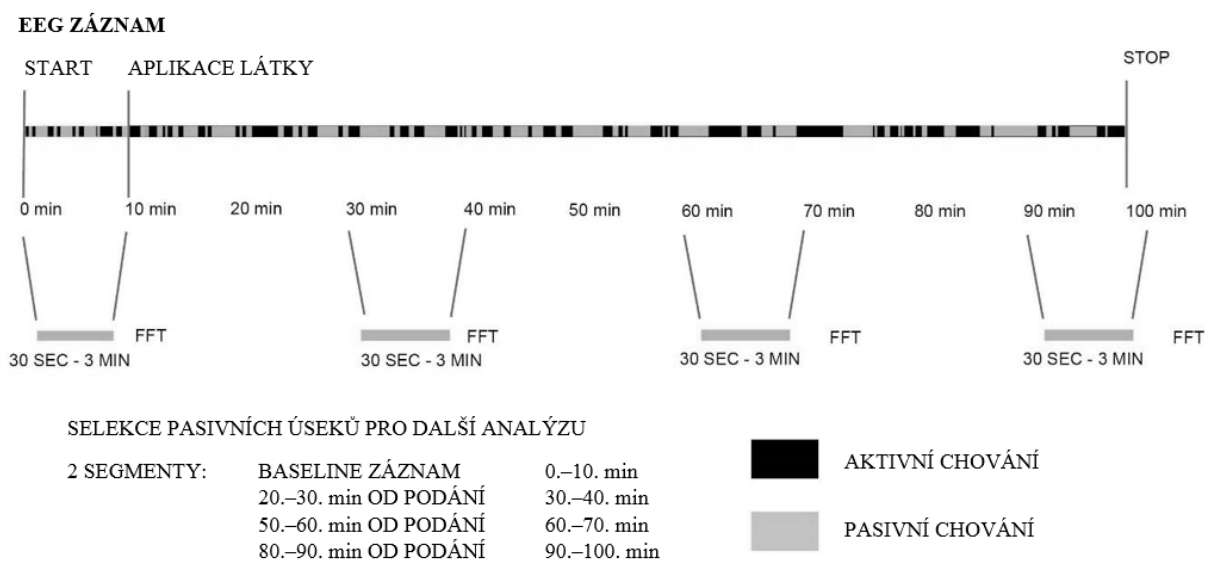


- F3/F4:** frontální asociační kůra
- C3/C4:** primární motorická kůra
- P3/P4:** mediální parietální asociační kůra
- T3/T4:** sekundární sluchová kůra
- P5/P6:** laterální parietální asociační kůra
- T5/T6:** temporální asociační kůra

Obr. 1. Polohy elektrod na lebce a mozku laboratorního potkana. F – frontální, C – centrální, P – parietální, T – temporální, Ref = referenční elektroda, lichá čísla – elektrody nad levou hemisférou, sudá čísla – elektrody nad pravou hemisférou

EEG záznamy byly registrovány (21kanálový zesilovač) po dobu 100 minut, prvních 10 minut klidový záznam (baseline) a poté byla zvířatům subkutánně aplikována látka. Po dobu registrace se mohli potkani volně pohybovat. Souběžně s registrací EEG bylo manuálně v programu Activities zaznamenáváno chování zvířat (aktivita / inaktivita).

V rámci preprocessingu byla data digitálně filtrována a rouzdělena na úseky odpovídající behaviorální aktivitě a inaktivitě (obr. 2). Pro další analýzu byla použita pouze data odpovídající behaviorální inaktivitě zvířat. Pro vlastní analýzu byly vybrány 4 úseky EEG před aplikací látek (baseline), 20–30 minut, 50–60 minut a 80–90 minut po aplikaci látek. Po rychlé Fourierově transformaci byla provedena spektrální a koherenční analýza.



Obr. 2. Schéma QEEG experimentu

3.5. Statistika

Behaviorální data byla zpracována dvojcestnou analýzou rozptylu ANOVA (Tyls, Palenicek et al., 2016). QEEG data psilocinu s 5HT antagonisty a antipsychotiky byla normalizovaná z-transformací s využitím směrodatné odchylky. Pro srovnání účinku jednotlivých látek na absolutní spektra a EEG koherence mezi sebou a v čase byly použity separátní analýzy rozptylu pro opakovaná měření (RM-ANOVA) s Greenhouse-Geisser korekcí pro jednotlivé elektrodové páry a frekvenční pásma. V případě statisticky významné interakce v RM-ANOVA mezi faktory látka a čas byly prováděny post-hoc testy dle Bonferroniho s korekcí na mnohočetná srovnávání. Pokud srovnání ukázalo statisticky významný rozdíl mezi látkami již při vstupním měření, byla data přepočítána analýzou kovariance (ANCOVA) s vstupními hodnotami jako kovariátami.

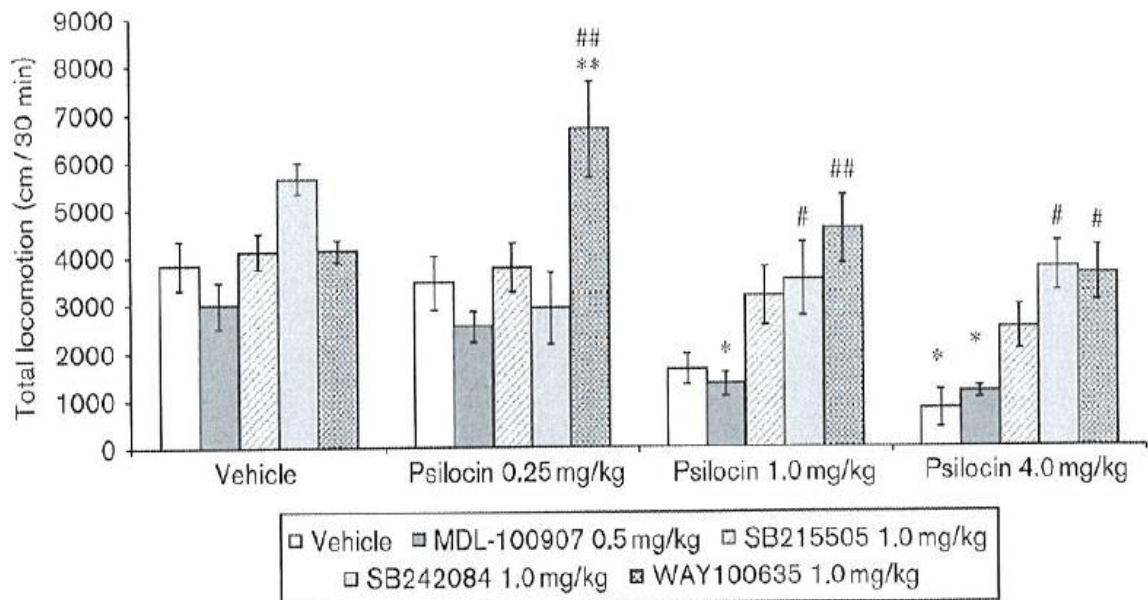
4. Souhrn výsledků

4.1 Farmakokinetika

Psilocin i psilocybin mají po subkutánním podání laboratorním potkanům maximální koncentraci v séru 30 minut po podání. Obě křivky jsou velmi podobné, po podání psilocybinu dosahuje psilocin maximální koncentrace v mozku o něco dříve (35. minuta) než po podání psilocinu (45. minuta).

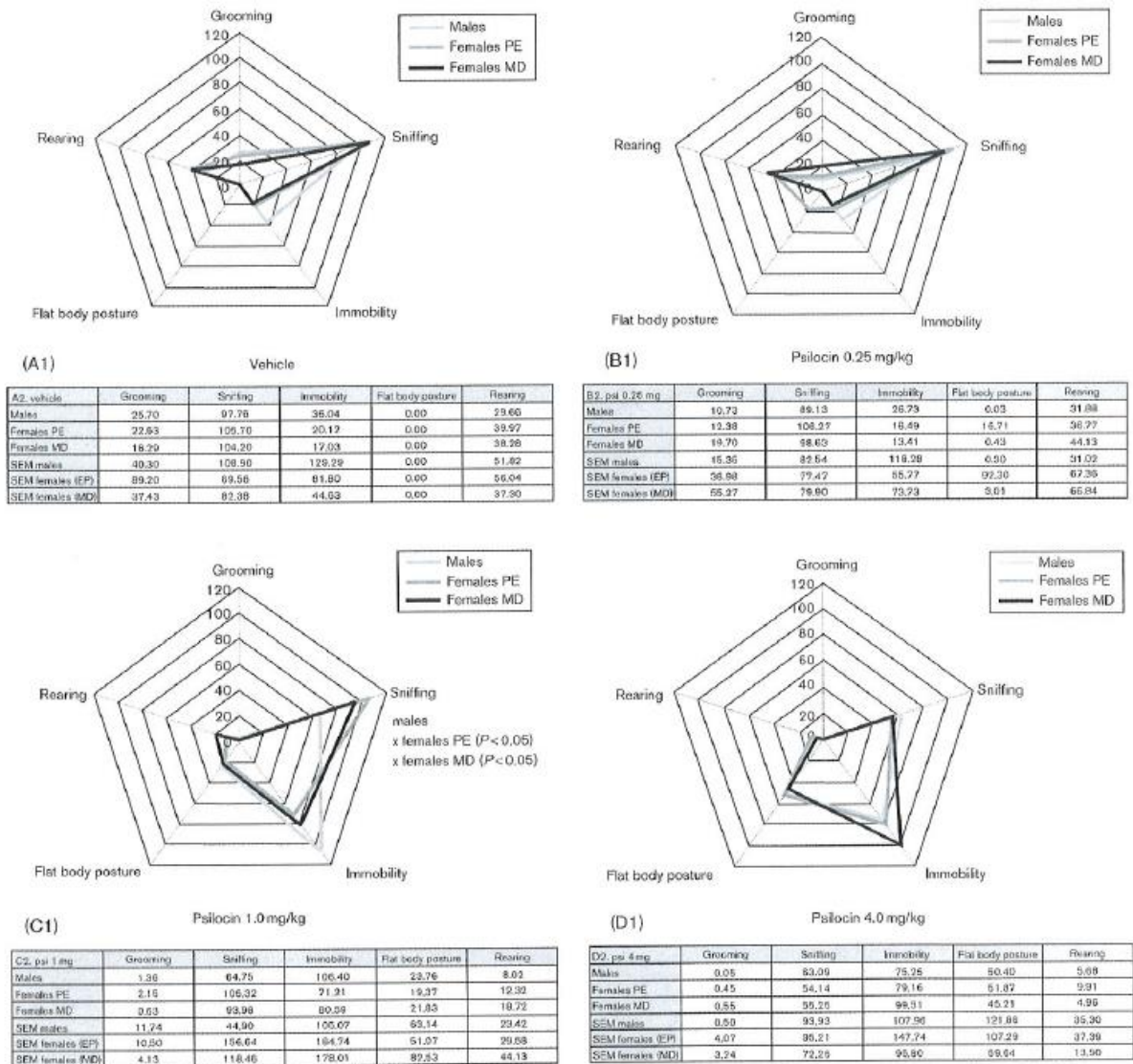
4.2 Behaviorální parametry

Psilocin indukuje charakteristický behaviorální vzorec laboratorních potkanů (obr. 4) snižuje lokomoci především cestou 5HT1A a 5HT2C receptorů (obr. 3) a ve střední dávce 1 mg/kg narušoval sezorimotorické zpracování informace. Samice na vrcholu cyklu jsou k těmto účinkům rezistentnější. Žádný z použitých antagonistů neovlivnil významně deficit v PPI indukované psilocybinem.



Obr. 3. Účinek psilocinu a 5HT antagonistů lokomoci potkana.

Psilocin 0,25, 1 a 4 mg/kg snižoval v závislosti na dávce lokomoční aktivitu. Inhibice lokomoční aktivity byla normalizována antagonistou 5HT2C a 5HT1A receptorů, nikoliv antagonistou 5HT2A receptorů. *,** $p < 0,05, 0,01$ od kontrolní skupiny. #, ## $p < 0,05, 0,01$ pro účinek antagonisty v rámci jedné dávky psilocinu.



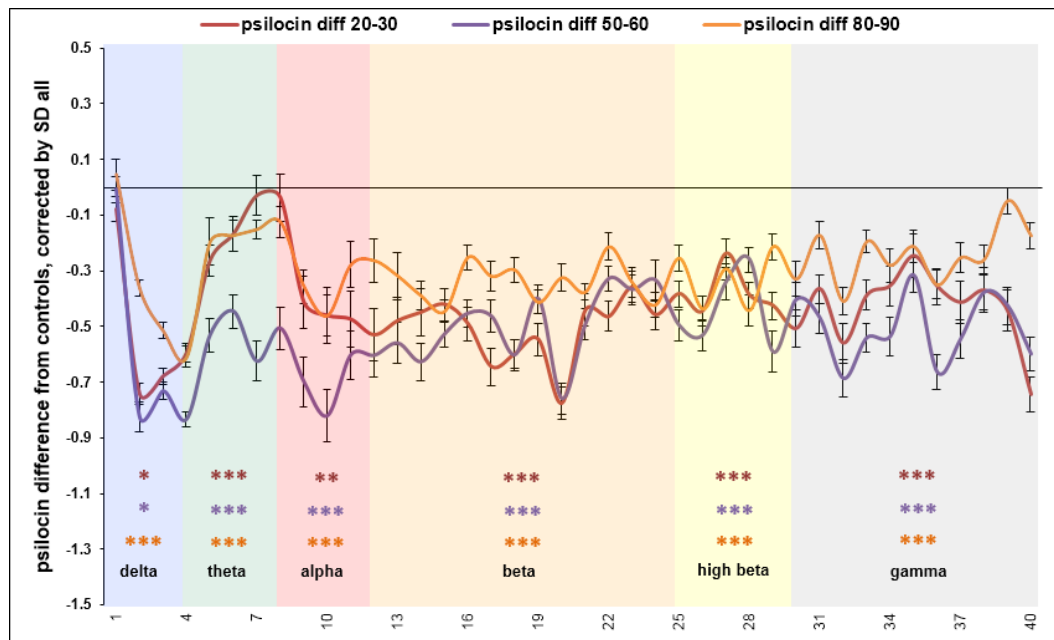
Obr. 4. Účinek psilocinu na behaviorální vzorec potkanů v testu otevřeného pole. Totální čas v sekundách strávených behaviorálními vzorci. Fyziologický roztok (A1), psilocin 0,25, 1 a 4 mg/kg (B1, C1, D1). Psilocin signifikantně snižoval fyziologické behaviorální vzorce - čenichání (sniffing), exploraci (rearing) a čištění (grooming), naopak indukoval vzorce atypické jako ploché držení těla (flat body posture) a nárůst imobility. Průměrné časy v sekundách jsou znázorněny v tabulkách (A2-D2). pohlavní rozdíly jsme pozorovali pouze v dávce 1mg/kg psilocinu – samci x samice v proestru a estru (PE) $p < 0,05$ a samci x samice v metestru a diestru (MD) $p < 0,05$.

4.3. QEEG

4.3.1. Vliv psilocinu a fyziologického roztoku na QEEG

Psilocin indukoval ve všech časových úsecích ve srovnání s hodnotami před aplikací (baseline) pokles průměrného absolutního výkonu (ze všech elektrod) napříč celým spektrem, zatímco u kontrolních zvířat poklesl výkon pouze přechodně v pásmu theta. Psilocin snižoval absolutní výkon ve všech frekvenčních pásmech a všech hodnocených časových úsecích oproti kontrolní skupině (obr. 5). Psilocin indukoval nejmasivnější pokles výkonu fronto-centrálně a

temporálně, v oblasti temporo-parietální došlo ke zvýšení absolutního výkonu v pásmech theta a gama (obr. 6). Psilocin způsobil masivní pokles intra- (především fronto-temporálních) i inter-hemisferálních koherencí ve srovnání s baseline (obr. 7), po fyziologickém roztoku nebyly pozorovány změny. Klastrová analýza dynamiky změn v koherencích identifikovala 4 klastry (sítě) elektrodoových párů po psilocinu, zatímco fyziologický roztok nevedl k vytvoření žádných klastrů. Ke změně funkční konektivity indukované psilocinem tak dochází ve 4 charakteristických bilaterálně souměrných konektivních sítích (obr. 8).



Obr. 5. Rozdíl absolutního výkonu: psilocin oproti kontrolním zvířatům. Průměrný absolutní výkon byl snížen oproti kontrolní skupině ve 3 časech. Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$. Psilocin způsobil signifikantní pokles absolutního výkonu oproti kontrolním zvířatům.

Obr. 6. Absolutní výkon v jednotlivých elektrodách v maximu účinku (20.-30. minuta). (tabulka na další straně nahoře). Hodnoty jsou bezrozměrná čísla vypočítaná následujícím způsobem: 1) data byla normalizována směrodatnou odchylkou všech zvířat 2) od hodnot absolutního spektra v daném časovém úseku byla odečtena odpovídající baseline a 3) finální číslo je rozdílem hodnot získaných v bodu dvě, kdy byly od psilocinu odečteny hodnoty kontrol. Tučně jsou zobrazeny signifikantní výsledky statistiky po 1Hz pro jednotlivé elektrody, sudá čísla elektrod pro pravou hemisféru, tučně signifikantní změna výkonu, barva popisuje směr změny (červená +, modrá -), odstín popisuje míru změny od nejsvětější po nejtmaší (0 - 0,25, 0,26-50, 0,51+). V temporo-parietální oblasti bilaterálně jsme zaznamenali naopak signifikantní nárůst výkonu v pásmu theta, vysoká beta a gama.

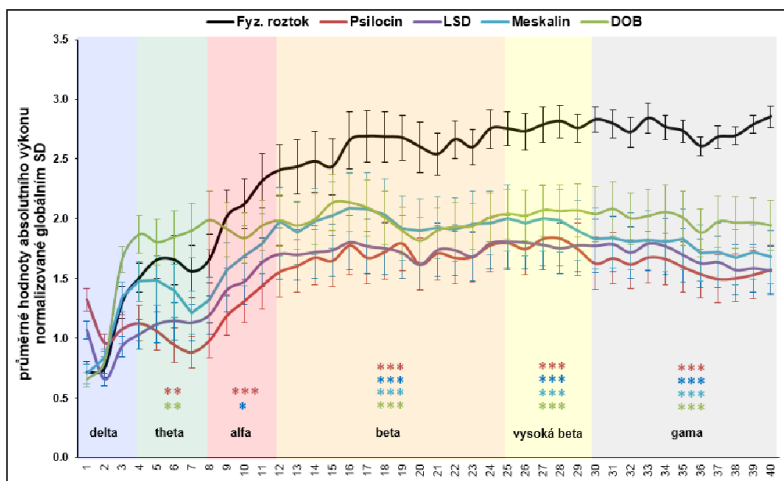
Obr. 7. EEG koherence. Psilocin 20-30 vs. baseline. procentuální pokles modře, nárůst červeně – viz legenda pod každým obrázkem mozku; zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$ a v absolutních číslech reprezentující minimálně nárůst/pokles o 25%. Psilocin způsobil pokles intra-hemisferálních fronto-temporálních koherencí v pásmu delta a theta, v pásmu alfa a beta potom pokles inter-hemisferálních (bitemporálních) koherencí.

Obr. 8. Klastrová analýza EEG koherencí po psilocinu (A2-D2, předchozí strana). A2. vizualizace klastrů koherenčních párů v 2D prostoru (zde 4 zřetelné klastry). B2. Diferenční matice ilustrující strukturu dat po psilocinu. Řádky reprezentují elektrodové páry; sloupce jsou změny koherencí - zleva jsou změny ve třech časech po aplikaci vždy pro jednotlivá pásma, tj. 18 sloupců. Červené vertikály v matici značí normalizaci psilocinem indukovaných změn na konci měření. Horizontální symetrie znamená podobnosti mezi elektrodovými páry a svědčí pro přítomnost charakteristických klastrů. C2. Objektivizační kritérium pro počet klastrů po psilocinu (červeně, $n = 4$) ve srovnání s kontrolními zvířaty (modře, $n = 1$). D2. Vizualizace klastrů koherencí po psilocinu, které tvoří 4 bilaterálně souměrné funkční sítě: interhemisferální bifrontální-bitemporální (1., tmavě modrá), dvě intrahemisferální souměrné sítě s hlavními uzly fronto-centrálně projekující do temporo-parietálních oblastí uložených mediálně (2., tmavě červená) a laterálně (3., světle modrá), intrahemisferální parieto-temporální síť (4., žlutá).

4.3.2. Psilocin, LSD, mezkalin a DOB – porovnání dynamiky QEEG

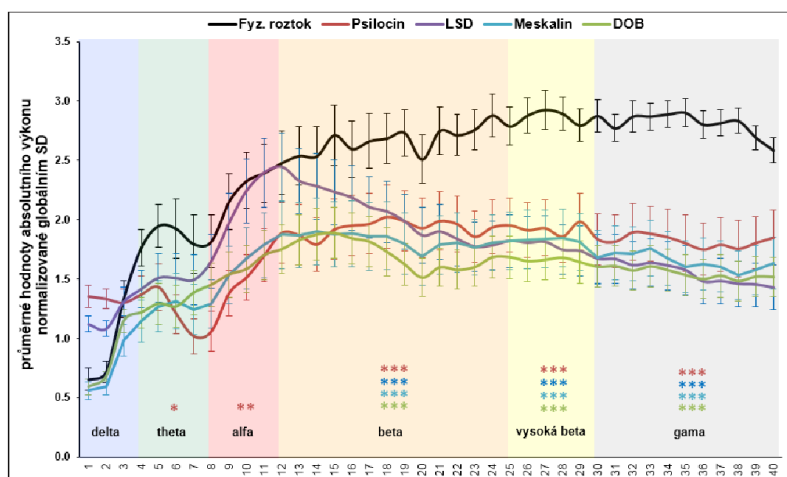
Změny v kvantitativním EEG indukované psilocinem byly v zásadě shodné s dalšími serotonergními halucinogeny – LSD, mezkalinem a DOB. Pozorovali jsme pokles absolutního výkonu napříč frekvenčním spektrem (obr. 9) a snížení EEG koherencí (obr. 10).

A. 20 - 30 min



Obr. 9. Průměrné hodnoty absolutního výkonu normalizované globálním SD pro všechny látky v jednotlivých časových úsecích. A: 20–30 min po podání, C: 80-90 min po podání; na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

C. 80 - 90 min



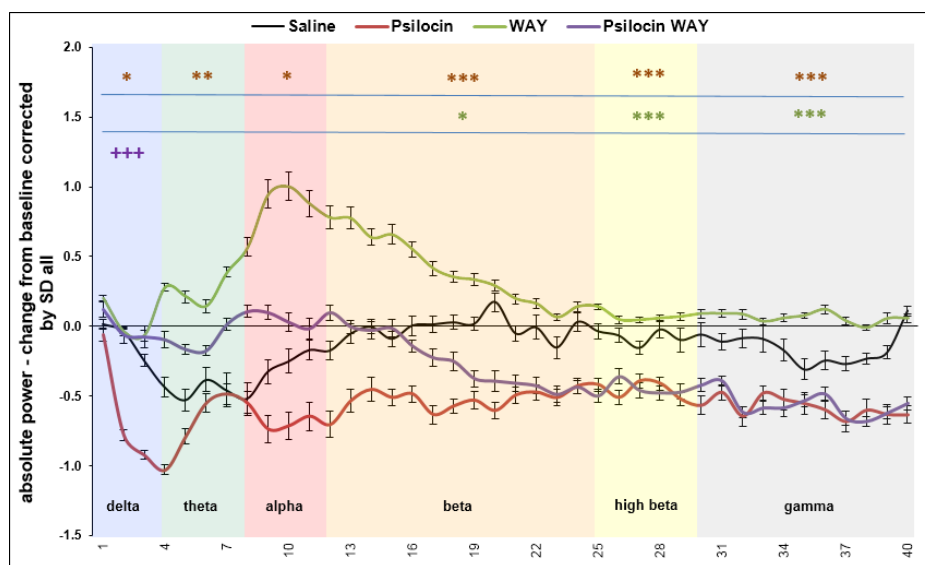
psychedelikum	čas x baseline	DELTA		THETA		ALFA		BETA		VYSOKÁ BETA		GAMA	
		Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H	Intra-H	Inter-H
Psilocin	20 - 30 min												
	50 - 60 min												
	80 - 90 min												
LSD	20 - 30 min												
	50 - 60 min												
	80 - 90 min												
Mezkalin	20 - 30 min												
	50 - 60 min												
	80 - 90 min												
DOB	20 - 30 min												
	50 - 60 min												
	80 - 90 min												

Obr. 10. Dynamika změn EEG koherencí. Škála reprezentuje dynamiku změn EEG koherence od silného snížení (tmavě modrá), přes ojedinělé změny (bílá) po zvýšení koherence (tmavě červená). Psychedelika indukovala snížení EEG koherencí s maximem v nižších frekvenčních pásmech. V nízkých frekvenčních pásmech převládaly změny intra-hemisferálně (Intra-H), ve vyšších frekvenčních pásmech inter-hemisferálně (Inter-H).

4.3.3. Vliv 5HT antagonistů a antipsychotik na QEEG změny indukované psilocinem

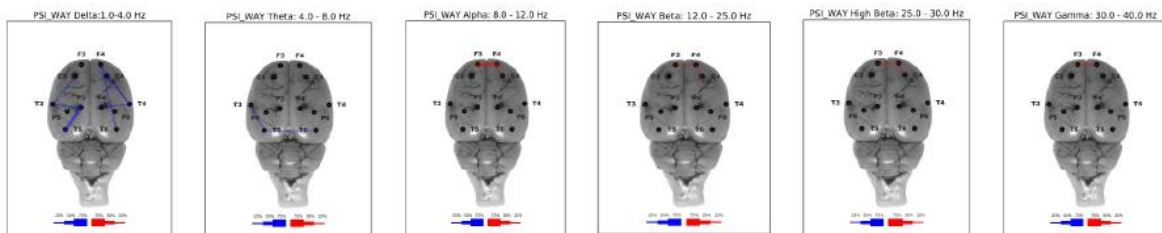
Antipsychotika normalizují pouze změny v absolutním výkonu indukované psilocinem, zatímco selektivní serotonergní antagonisté normalizují absolutní výkon, ale také částečně kompenzují diskonekci. Na tomto místě uvádím pouze příklady našich dat - 5HT1A antagonistu a klozapin v maximu účinku (20.-30. minuta).

Antagonista 5HT1A receptoru zvyšoval průměrný absolutní výkon v pásmech theta - gama, hladinu významnosti změny dosáhl v pásmech beta – gama. Pokud byl podán společně s psilocinem, vedl k normalizaci psilocinem sníženého absolutního výkonu v nižších frekvencích (delta – beta), hladinu významnosti však dosáhl pouze v pásmu delta (obr. 11). 5HT1A antagonist nevedl k výrazným změnám konektivity, normalizoval však psilocinem indukovanou diskonekci (obr. 12). Normalizace fronto-temporální konektivity 5HT1A antagonistou je detailně zobrazena v čase (obr. 13). Účinek samotného antagonisty 5HT1A receptoru nevedl ke vzniku klastrů, normalizoval ale klastrování způsobené psilocinem.



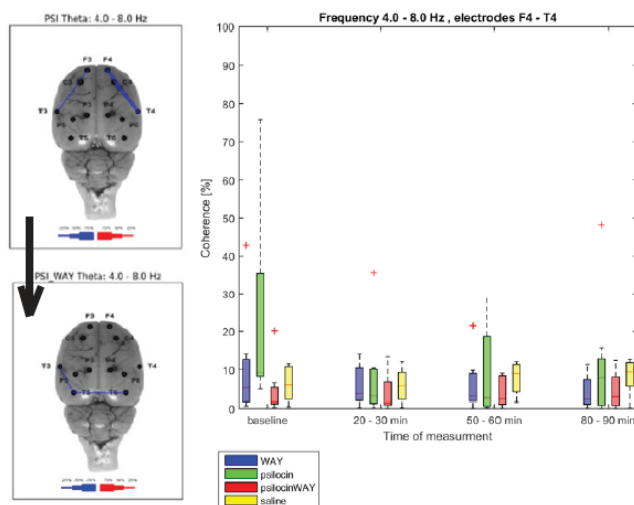
Obr. 11. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek 5HT1A antagonisty v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu hnědě resp. zeleně (psilocin resp. WAY vs. kontrolní skupina) a fialově (psilocin s WAY vs. psilocin).

PSI+WAY 20-30 x baseline



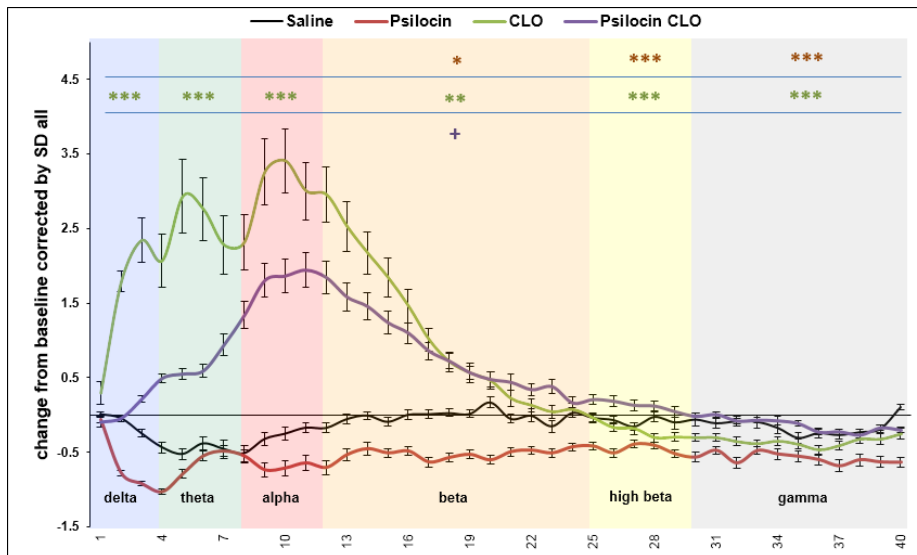
Obr. 12. EEG koherence pro kombinace psilocinu a 5HT1A antagonisty v 20.-30. minutě oproti kontrolám. % pokles modře, % nárůst červeně – viz legenda; zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$.

WAY - normalizace theta koherence F4 - T4



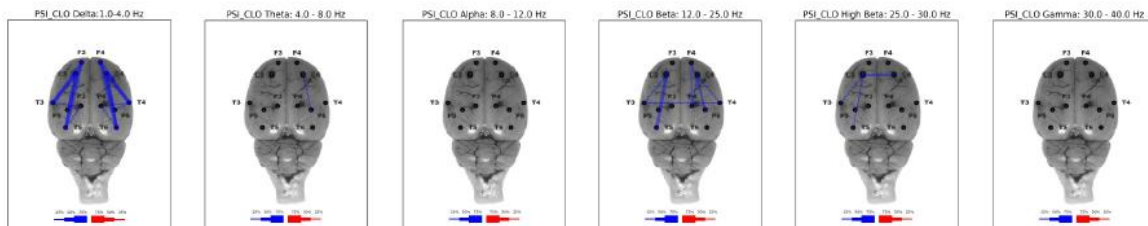
Obr. 13. Normalizace psilocinem indukované fronto-temporální diskonekce 5HT1A antagonistou. Graf znázorňuje změnu koherence v procentech v jednotlivých časech. Boxplot znázorňuje 95% interval spolehlivosti (přerušovaná čára), rozmezí mezi dolním (25%) a horním kvartilem (75%) (samotný box), medián (červená vodorovná úsečka), outliers (červené křížky).

Klozapin zvyšoval absolutní spektrální výkon v pásmech delta – alfa, částečně i beta a naopak snižoval výkon v pásmu vysoká beta – gama. Pokud byl podán v kombinaci s psilocinem, vedl ke zvýšení absolutního výkonu ve frekvencích theta – beta, hladiny významnosti dosáhla změna pouze v pásmu beta (obr. 14). Klozapin sám o sobě snižoval frontotemporální koherence v pásmu delta, theta, beta a spíše prohluboval psilocinem způsobenou diskonekci v pásmu delta a beta (obr. 15). Klozapin vytvářel 3 klastry, v kombinaci s psilocinem nevedl k ovlivnění klastrování.



Obr. 14. Průměrné hodnoty absolutního výkonu od baseline normalizované globálním SD pro účinek klozapinu v čase 20-30 minut po podání (maximální změna). Na ose x je vynesena frekvence v Hz, na ose y absolutní výkon - bezrozměrná veličina (podíl rozdílu absolutního spektra v úseku 20-30 x baseline a SD ze všech hodnocených skupin). Hladina významnosti je značena $p < 0,05 = *$, $p < 0,01 = **$, $p < 0,001 = ***$; vynesena v grafu je pouze pro kontrolní skupinu vs. aktivní látky.

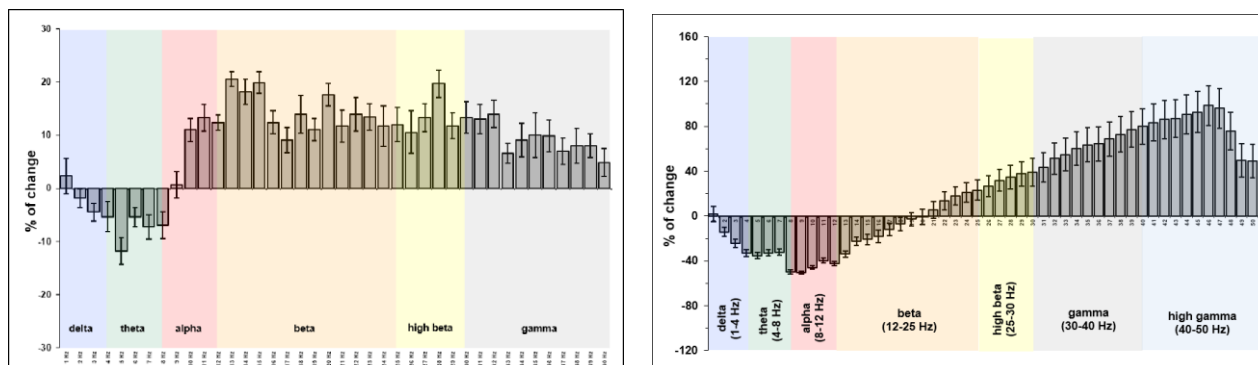
PSI+KLO 20-30 x baseline



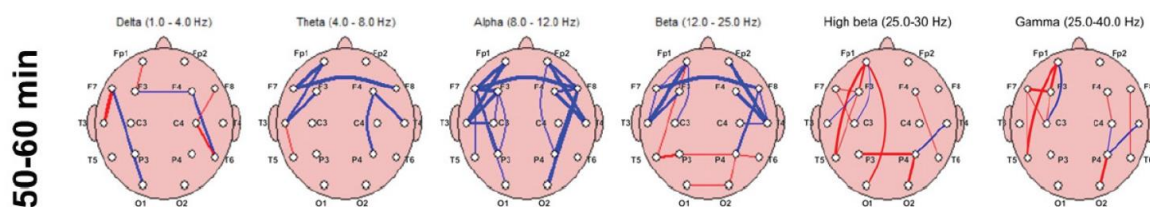
Obr. 15. EEG koherence pro kombinace psilocinu a 5HT1A antagonisty v 20.-30. minutě oproti kontrolám. % pokles modře, % nárůst červeně – viz legenda; zobrazeny pouze koherence statisticky významné $p < 0,05$.

4.3.4. Translační validita serotonergního modelu

V nedávné době se našemu výzkumnému týmu podařilo získat pilotní data z experimentů s psilocybinem u lidských subjektů ($n=18$) (Palenicek et al., 2016; Tyls, Viktorinova et al., 2016). Přestože jsou výsledky částečně odlišné, tvar křivky relativního spektrálního výkonu se velmi podobá (obr. 16). Psilocin vedl ke snížení výkonu v dominantní frekvenci u obou druhů. Psilocybin zároveň působil, podobně jako psilocin u zvířat, významný pokles EEG koherencí v pásmu theta, alfa a beta (s převahou fronto-temporální diskonekce) a diskrétní zvýšení EEG koherencí ve vyšších frekvenčních pásmech beta – gama ve srovnání s baseline (obr. 17).



Obr. 20. Procentuální rozdíl relativního výkonu: 20-30 minut po podání psilocinu potkanům oproti baseline (A), 50.-60. minut po podání psilocybinu vs. baseline v dávce 0, 26 mg/kg lidem (B); na ose x je vynesena frekvence 0-40 Hz, na ose y procentuální rozdíl EEG výkonu po podání látky oproti baseline.



Obr. 21. EEG koherence, psilocybin v aplikaci 0, 26 mg/kg vs. baseline v 50.-60. min (lidské subjekty); snížení modře, nárůst červeně; p udává tloušťka čáry, viz legenda.

5. Diskuse

5.1. Behaviorální data

Psilocin vede v dávkové závislosti k typickým behaviorálním vzorcům chování, k inhibici lokomoce a k deficitu v PPI ve střední dávce. Ačkoliv za psychedelický účinek psilocinu je zodpovědný především 5HT_{2A} receptor, za snížení lokomoce jsou zodpovědné především 5HT_{1A} a 5HT_{2B/C} receptory. Hypolokomoční či bifázický účinek na lokomoci byl pozorován i u dalších 5HT halucinogenů (LSD, mezkalin, 2C-B) a kontrastuje s hyperlokomočním účinkem dopaminergních a glutamatergních látek, který je obvykle pokládán za model pozitivních příznaků. Celkové snížení trajektorie potkanů indukované 5HT halucinogeny lze přičítat sedaci a ataxii, která se projevovala imobilitou, snížením čenichání, čištění, explorační a atypickým behaviorálním vzorcům, které jsou součástí serotoninového syndromu („wet dog shakes“, „flat body posture“). Fenylethylaminy (mezkalin a 2C-B) narušovaly PPI v dávkové závislosti (Palenicek et al., 2013; Palenicek et al., 2011), zatímco psilocin měl bifázický účinek. Jelikož deficit v PPI zprostředkovává především 5HT_{2A} a částečně 5HT_{1A} receptor, může ho ve vyšších dávkách teoreticky kompenzovat aktivita psilocinu na 5HT_{2C} receptoru (Tyls, Palenicek et al., 2016).

5.2. QEEG data

Psilocin snížil absolutní výkon oproti baseline s maximem v pásmu základní aktivity theta. Analogické změny v EEG aktivitě (narušení základní aktivity a desynchronizace) po podání halucinogenů byly popsány v raných EEG studiích u zvířat, i u lidí. Shodně s našimi animálními daty bylo v MEG po psilocybinu a LSD u lidí také popsáno snížení výkonu napříč spektrem s maximem v základní aktivitě alfa (Carhart-Harris et al., 2016; Muthukumaraswamy et al., 2013). Oproti tomu QEEG nálezy pacientů se schizofrenií popisují snížení absolutního výkonu ve vysokofrekvenčních oblastech a nárůst pomalovlných aktivit (Brunovský, 2004). Jedním z možných vysvětlení nárůstu výkonu ve frekvenčních oblastech theta a gama nad temporálními a parietálními oblastmi kůry může být limbická hyperaktivita, jelikož se do těchto oblastí propaguje aktivita z limbického systému uloženého pod tenkou vrstvou kortexu. Tento nález odpovídá nálezům z animálních (Adey et al., 1962; Horibe, 1974) i humánních studií (Monroe a Heath, 1961) s hlubokými elektrodami vnořenými do limbických oblastí, které popisují vysokovoltážní výboje theta indukované halucinogeny a značí „on-line“ stav limbického systému (Buzsáki, 2002). Limbická hyperaktivita v humánních studiích je dávana do souvislosti s převahou tzv. primárního procesu, v průběhu kterého se do vědomí propagují nevědomé obsahy (Carhart-Harris a Friston, 2010; Viktorinová a Tylš, 2016). Nález zvýšené aktivity gama v temporálních oblastech bilaterálně je kortikálním korelátem limbické theta aktivity (tzv. theta-gama coupling) (Buzsáki a Wang, 2012). Zvýšená gama aktivita nad temporálními oblastmi byla pozorována i v naší humánní studii s psilocybinem (Palenicek et al., 2016) a je častým nálezem u psychotických onemocnění. Snížení konektivity bylo pozorováno u akutní psychózy a je v souladu s diskonekční hypotézou schizofrenie (Friston a Frith, 1995), konkrétně je pak charakteristickým nálezem právě diskonekce fronto-temporálních oblastí, která může být podkladem vzniku např. auditivních halucinací (Ford a Mathalon, 2005). Celkově lze snížení EEG koherencí chápat jako diskonekci dlouhých projekcí, které společně se snížením synchronizace lokálních okruhů (snížení EEG absolutního výkonu), může být teoreticky odrazem zvýšené entropie mozku v průběhu psychedelického stavu (Carhart-Harris et al., 2014). To potvrdila i klastrová analýza dynamiky změn způsobených psilocinem – vedl k funkční reorganizaci neuronální sítě do 4 bilaterálně souměrných nezávislých sítí.

Antipsychotika měla opačný vliv na absolutní výkon než psilocin a normalizovala změny jím indukované lépe než 5HT antagonisté, které tak činily jen v nižším frekvenčním pásmu. Naproti tomu změny v EEG konektivitě způsobené psilocinem byly ovlivněny selektivně pouze antagonisty 5HT_{2C}, 5HT_{1A} a částečně 5HT_{2A} receptoru (pouze v pásmu delta). Antipsychotika sama o sobě způsobovala diskonekci a vedla naopak k prohloubení diskonekce indukované psilocinem. Selektivní 5HT antagonisté by mohly najít využití při farmakologickém zvládnutí náročných stavů v průběhu intoxikace psilocybinem a jsou potenciálně zajímavými cíli pro vývoj nových antipsychotik.

Srovnání animálních QEEG dat s psilocinem s daty z humánní studie s psilocybinem odhalilo paralely svědčící pro translační validitu našeho modelu. Nalezli jsme celkové snížení základní aktivity u potkana i u člověka, které bylo u lidí lokalizováno metodou LORETA do zadních středočárových struktur, které jsou součástí sítě DMN (shodně s MEG daty s psilocybinem (Muthukumaraswamy et al., 2013)) a okcipitálního laloku (shodně s MEG daty s LSD (Carhart-Harris et al., 2016)). Základní aktivita má synchronizační vliv na ostatní

mozkové rytmy a její snížení indukované psychedeliky proto může vést k nárůstu entropie (Carhart-Harris et al., 2014). Předpokládá se, že síť DMN, u které byly zaznamenáno maximum poklesu alfa aktivity (Muthukumaraswamy et al., 2013; Palenicek et al., 2016), je funkčně nadřazena limbickým oblastem (Raichle et al., 2001). V těchto oblastech byl zaznamenán naopak nárůst výkonu (theta a gama) v našich animálních datech, a částečně lze aktivaci limbických oblastí přisuzovat i nárůst gama výkonu s maximem nad temporální kúrou u lidských subjektů. Naopak rozdíly mezi potkanem a člověkem v našich datech spočívají v nárůstu EEG koherencí ve vysokofrekvenčních oblastech (beta - gama) a v míře zvýšení výkonu v gama pásmu u člověka. Jelikož aktivita gama často souvisí s vyššími mozkovými funkcemi (např. integrace vědomé zkušenosti), lze tyto diskrepance přisoudit mezidruhovým rozdílům.

6. Závěry

Na základě shrnutí poznatků získaných v průběhu řešení mé disertační práce mohu konstatovat, že se nám podařilo prokázat následující:

- 1) Vliv serotonergních psychedelických látek na chování potkanů i na QEEG má specifické charakteristiky, které odlišují 5HT psychedelika od jiných farmakologických skupin.
- 2) Na behaviorální úrovni existují pohlavní rozdíly v účincích psilocinu.
- 3) Na behaviorálním účinku psilocinu i jeho vlivu na QEEG se významně podílí nejen 5HT_{2A}, ale také další serotonergní receptory.
- 4) Psilocin způsobuje celkový pokles průměrného EEG výkonu, ale také lokálně specifické zvýšení absolutního výkonu v pásmu theta a gama nad limbickými oblastmi.
- 5) Psilocin způsobuje celkové snížení EEG konektivity dlouhých projekcí, které lze klastrovat do 4 nezávislých sítí.
- 6) Analogické změny v QEEG indukované psilocinem v animálním modelu byly pozorovány u lidských subjektů pod vlivem psilocybinu.

Naše nálezy jsou v souladu s ranými experimenty hodnotícími vliv psychedelik na EEG na zvířatech i lidských subjektech a zároveň s recentními zobrazovacími studiemi s psilocybinem a neuropsychoanalytickými teoriemi, snažícími se postihnout účinek psychedelických látek. Naše data potvrzují translační validitu serotonergního modelu akutní psychózy, což nám umožňuje dále studovat detailně roli mozkových sítí v neurobiologii lidského vědomí.

7. Použitá literatura

1. Adey, W. R., Bell, F. R., & Dennis, B. J. (1962). Effects of LSD-25, psilocybin, and psilocin on temporal lobe EEG patterns and learned behavior in the cat. *Neurology*, *12*, 591-602.
2. Başar, E., & Bullock, T. H. (1992). *Induced rhythms in the brain*: Springer.
3. Brunovský, M. (2004). Kvantitativní elektroencefalografie v psychiatrii brunovský. *Psychiatrie*, *8*(Supl. 3), 6.
4. Buzsáki, G. (1996). The hippocampo-neocortical dialogue. *Cereb Cortex*, *6*(2), 81-92.
5. Buzsáki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, *33*(3), 325-340.
6. Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of Gamma Oscillations. *Annual review of neuroscience*, *35*(1), 203-225. doi:10.1146/annurev-neuro-062111-150444
7. Carhart-Harris, R. L., Erritzoe, D., Williams, T., Stone, J. M., Reed, L. J., Colasanti, A., Tyacke, R. J., Leech, R., Malizia, A. L., Murphy, K., Hobden, P., Evans, J., Feilding, A., Wise, R. G., & Nutt, D. J. (2012). Neural correlates of the psychedelic state as determined by fMRI studies with psilocybin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *109*(6), 2138-2143. doi:10.1073/pnas.1119598109
8. Carhart-Harris, R. L., & Friston, K. J. (2010). The default-mode, ego-functions and free-energy: a neurobiological account of Freudian ideas. *Brain*, *133*(Pt 4), 1265-1283. doi:10.1093/brain/awq010
9. Carhart-Harris, R. L., Leech, R., Hellyer, P. J., Shanahan, M., Feilding, A., Tagliazucchi, E., Chialvo, D. R., & Nutt, D. (2014). The entropic brain: a theory of conscious states informed by neuroimaging research with psychedelic drugs. *Front Hum Neurosci*, *8*, 20. doi:10.3389/fnhum.2014.00020
10. Carhart-Harris, R. L., Muthukumaraswamy, S., Roseman, L., Kaelen, M., Droog, W., Murphy, K., Tagliazucchi, E., Schenberg, E. E., Nest, T., Orban, C., Leech, R., Williams, L. T., Williams, T. M., Bolstridge, M., Sessa, B., McGonigle, J., Sereno, M. I., Nichols, D., Hellyer, P. J., Hobden, P., Evans, J., Singh, K. D., Wise, R. G., Curran, H. V., Feilding, A., & Nutt, D. J. (2016). Neural correlates of the LSD experience revealed by multimodal neuroimaging. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *113*(17), 4853-4858. doi:10.1073/pnas.1518377113
11. Don, N. S., McDonough, B. E., Moura, G., Warren, C. A., Kawanishi, K., Tomita, H., Tachibana, Y., Bohlke, M., & Farnsworth, N. R. (1998). Effects of Ayahuasca on the human EEG. *Phytomedicine*, *5*(2), 87-96. doi:10.1016/S0944-7113(98)80003-2
12. Ford, J. M., & Mathalon, D. H. (2005). Corollary discharge dysfunction in schizophrenia: can it explain auditory hallucinations? *Int J Psychophysiol*, *58*(2-3), 179-189. doi:10.1016/j.ijpsycho.2005.01.014
13. Friston, K. J. (1999). Schizophrenia and the disconnection hypothesis. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, *395*, 68-79.
14. Friston, K. J., & Frith, C. D. (1995). Schizophrenia: a disconnection syndrome? *Clin Neurosci*, *3*(2), 89-97.
15. Horacek, J., Bubenikova-Valesova, V., Kopecek, M., Palenicek, T., Dockery, C., Mohr, P., & Hoschl, C. (2006). Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs*, *20*(5), 389-409.
16. Horacek, J., Dockery, C., Kopecek, M., Spaniel, F., Novak, T., Tislerova, B., Klirova, M., Palenicek, T., & Hoschl, C. (2006). Regional brain metabolism as the predictor of performance on the Trail Making Test in schizophrenia. A 18FDG PET covariation study. *Neuro Endocrinol Lett*, *27*(5), 587-594.
17. Horibe, M. (1974). The effects of psilocybin on EEG and behaviour in monkeys. *Act Nerv Super (Praha)*, *16*(1), 40-42.
18. Kanayama, N., Sato, A., & Ohira, H. (2007). Crossmodal effect with rubber hand illusion and gamma-band activity. *Psychophysiology*, *44*(3), 392-402. doi:10.1111/j.1469-8986.2007.00511.x
19. Lee, K.-H., Williams, L. M., Breakspear, M., & Gordon, E. (2002). Synchronous Gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, *41*(1). doi:10.1016/s0165-0173(02)00220-5
20. Monroe, R. R., & Heath, R. G. (1961). Effects of lysergic acid and various derivatives on depth and cortical electrograms. *J Neuropsychiatr*, *3*, 75-82.
21. Muthukumaraswamy, S. D., Carhart-Harris, R. L., Moran, R. J., Brookes, M. J., Williams, T. M., Erritzoe, D., Sessa, B., Papadopoulos, A., Bolstridge, M., Singh, K. D., Feilding, A., Friston, K. J., & Nutt, D. J. (2013). Broadband cortical desynchronization underlies the human psychedelic state. *J Neurosci*, *33*(38), 15171-15183. doi:10.1523/JNEUROSCI.2063-13.2013
22. Nekovarova, T., Fajnerova, I., Horacek, J., & Spaniel, F. (2014). Bridging disparate symptoms of schizophrenia: a triple network dysfunction theory. *Front Behav Neurosci*, *8*, 171. doi:10.3389/fnbeh.2014.00171
23. Palenicek, T., Fujakova, M., Brunovsky, M., Horacek, J., Gorman, I., Balikova, M., Rambousek, L., Syslova, K., Kacer, P., Zach, P., Bubenikova-Valesova, V., Tyls, F., Kubesova, A., Puskarcikova, J., & Hoschl, C. (2013). Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-

- bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 225(1), 75-93. doi:10.1007/s00213-012-2797-7
24. Palenicek, T., Fujakova, M., Tyls, F., Kubesova, A., Brunovsky, M., & Horacek, J. (2011). Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzomotorické zpracování informací – animální model psychózy. *15(Supplementum 2)*, 5.
 25. Palenicek, T., Tyls, F., Viktorinova, M., Androvicova, R., Brunovsky, M., & Horacek, J. (2016). *Psilocybin effects on brain connectivity – human EEG study*. Paper presented at the International Conference on Psychedelic Research, Amsterdam.
 26. Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(2), 676-682. doi:10.1073/pnas.98.2.676
 27. Riba, J., Anderer, P., Morte, A., Urbano, G., Jane, F., Saletu, B., & Barbanoj, M. J. (2002). Topographic pharmaco-EEG mapping of the effects of the South American psychoactive beverage ayahuasca in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*, 53(6), 613-628.
 28. Tyls, F., Palenicek, T., Fujakova, M., Kubesova, A., Brunovsky, M., Krajca, V., & Horacek, J. (2012). *A comparison of electroencephalographic activity in serotonergic and glutamatergic models of psychosis*. Paper presented at the 28th CINP Congress, Stockholm, Sweden.
 29. Tyls, F., Palenicek, T., & Horacek, J. (2014). Psilocybin--summary of knowledge and new perspectives. *Eur Neuropsychopharmacol*, 24(3), 342-356. doi:10.1016/j.euroneuro.2013.12.006
 30. Tyls, F., Palenicek, T., Kaderabek, L., Lipski, M., Kubesova, A., & Horacek, J. (2016). Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin. *Behav Pharmacol*, 27(4), 309-320. doi:10.1097/FBP.0000000000000198
 31. Tyls, F., Viktorinova, M., Prokopcova, D., Korcak, J., Horacek, J., & Palenicek, T. (2016). *Psilocybin administration in clinical trial: acute effects, long-term effects and perception of music*. Paper presented at the International Conference on Psychedelic Research, Amsterdam.
 32. Tylš, F. (2015). Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*, 19(2), 8.
 33. Viktorinová, M., & Tylš, F. (2016). Nevědomé procesy lidské mysli - poznatky z psychedelického výzkumu. *Psychiatrie*, 20(2), 8.
 34. Vollenweider, F. X., Leenders, K. L., Scharfetter, C., Maguire, P., Stadelmann, O., & Angst, J. (1997). Positron emission tomography and fluorodeoxyglucose studies of metabolic hyperfrontality and psychopathology in the psilocybin model of psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 16(5), 357-372. doi:10.1016/S0893-133X(96)00246-1
 35. von der Malsburg, C., & Schneider, W. (1986). A neural cocktail-party processor. *Biol Cybern*, 54(1), 29-40.

8. Seznam publikací autora

H-index: 3, počet citací 51 (bez autocitací 44), souhrnný IF = 23,2

Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J. Neurobiology of the effects of psilocybin in relation to its potential therapeutic targets. In: Preedy, VR., ed. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse - Volume 2: Stimulants, Club and Dissociative Drugs, Hallucinogens, Steroids, Inhalants and International Aspects*. New York: Elsevier, 2016, s. 782-793. ISBN: 978-0-12-800212-4. **Kapitola v knize.**

Tylš, F., Páleníček, T., Horáček, J. Psilocybin - summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 2014, roč. 24, č. 3, s. 342-356. ISSN: 0924-977X. **IF 4,595.**

Tylš, F., Páleníček, T., Kadeřábek, L., Lipski, M., Kubešová, A., Horáček, J. Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin. *Behavioural Pharmacology*. 2016. **IF 2,148**

Palenicek T, Fujakova M, Brunovsky M, Horacek J, Gorman I, Balikova M, Rambousek L, Syslova K, Kacer P, Zach P, Bubenikova-Valesova V, **Tyls F**, Kubesova A, Puskarcikova J, Hoschl C (2012) Behavioral, neurochemical and pharmacology-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **IF 4,077**

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. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, roč. 122, č. July, s. 212-221. ISSN: 0091-3057. **IF 2,608**

Páleníček T, Fujáková M, Brunovský M, Balíková M, Horáček J, Gorman I, **Tylš F**, Tišlerová B, Šoš P, Bubeníková-Valešová V, Höschl C, Krajča V. EEG spectral and coherence analysis of ketamine in rats – correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. *Neuropsychobiology* 2011;63(4):202-218. **IF 2,147**

Palenicek, T., Lhotkova, E., Zidkova, M., Balikova, M., Kuchar, M., Himl, M. Miksatkova, P., Cegan, M., Vales, K., **Tyls, F.**, Horsley, R.R. Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2016, **69**(August 2016), 49-59. **IF 4,361**

Kubesova, A., Tejkalova, H., Syslova, K., Kacer, P., Vondrousova, J., **Tyls, F.**, Fujakova, M., Palenicek., Horacek, J. (2014). Biochemical, histopathological and morphological profiling of a rat model of early immune stimulation: relation to psychopathology. *PLoS one*, **10**(1). **IF 3,230**

Tylš, F. Neurobiologie psilocybinu ve vztahu k jeho potenciálnímu terapeutickému využití. *Psychiatrie*. 2015, **19**(2), 104-112. ISSN 1211-7579.

Viktorinová, M., **Tylš, F.** Nevědomé procesy lidské mysli: poznatky z psychedelického výzkumu. *Psychiatrie*. 2016, **20**(2), 100-107. ISSN 1211-7579.

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

Balíková, M., Hložek, T., Páleníček, T., **Tylš, F.**, Viktorinová, M., Melicher, T., Androvičová, R., Tomíček, P., Roman, M., Horáček, J. Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy – implikace pro řízení motorových vozidel. *Soudní lékařství*, 2014, roč. 59, č. 1, s. 2-6. ISSN: 0371-1854.

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