

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



DIZERTAČNÍ PRÁCE

Postgraduální studium oboru NEUROVĚDY

**Téma: Úloha vychytávání trijodthyroninu erythrocyty
ve vztahu hypotalamo-pituito-thyroidální osy
a depresivní poruchy**

MUDr. Lucie Kališová
Školitel: Doc. MUDr. Ivo Paclt, CSc
Odborný konzultant: RNDr. Zdeněk Fišar, CSc.

Praha 2005

OBSAH

I. VŠEOBECNÝ ÚVOD	2
II. TEORETICKÁ ČÁST – LITERÁRNÍ PŘEHLED	
1. Popis hypotalamo-pituito-thyroidální osy	6
1.1. Thyreotropin uvolňující hormon – TRH.....	6
1.2. Thyreotropin – TSH.....	6
1.3. Štítná žláza – syntéza hormonů.....	7
2. Poruchy nálady – farmakorezistentní deprese	12
2.1. Poruchy nálady – obecný přehled.....	12
2.2. Etiopatogeneze afektivních poruch.....	16
2.3. Deprese rezistentní na léčbu – TRD.....	21
2.3.1 Léčba deprese rezistentní na léčbu.....	25
3. Změny funkce HPT osy v rámci poruch nálady	31
3.1. Obecný přehled odchylek funkce HPT osy u afektivních poruch.....	31
3.2. Hypotézy propojení deprese a HPT osy.....	34
4. Podávání thyroïdních hormonů u afektivních poruch	39
4.1. Podávání thyreoliberinu – TRH.....	39
4.2. Podávání thyreotropinu – TSH.....	39
4.3. Podávání trijodthyroninu - T3.....	39
4.5. Podávání thyroxinu - T4.....	41
4.5. Nežádoucí účinky provázející léčbu thyroïdními hormony.....	42
5. Vychytávání L-trijodthyroninu (L-T3) erytrocyty	45
5.1. Základní poznatky o uptake L-T3 do erytrocytů.....	45
5.2. Změny vychytávání L-T3 u depresivních pacientů.....	47
5.3. Membránové fluidita a její možný vliv na L-T3 uptake.....	49
III. PRAKTICKÁ ČÁST – VÝZKUMNÁ ČÁST	
1. Cíle výzkumné práce	53
2. Metoda	54
2.1. Charakteristika sledovaného souboru.....	54
2.2. Měření uptake L-T3 a mikroviskozity.....	55
2.3. Analýza dat.....	58
3. Výsledky	59
4. Diskuze	66
5. Shrnutí výzkumné části	69
IV. SOUHRN v AJ	71
V. LITERATURA	74
Seznam použitých zkratk.....	93
Poděkování.....	94

I. VŠEOBECNÝ ÚVOD

Současná civilizace klade stále vyšší nároky na jednotlivce. Vše se zrychluje, doba je anonymní a odosobněná. Lidé se více stěhují do velkých urbanistických center, což zhoršuje jejich pocity vykořeněnosti. Ne každý jednatel stále se zvyšující tlak a tep doby dokáže zvládnout. Mnozí, a jejich počet se zvyšuje, pocítují nepříznivé důsledky současné civilizace. Nejzávažnějším negativním důsledkem jsou civilizační onemocnění, z nichž přední místo zaujímá depresivní porucha.

Téma této práce je tedy aktuální a přínosné neboť depresivní porucha dnes postihuje značné množství lidí, přičemž její výskyt ve vyspělých společnostech má stoupající trend. Epidemiologické studie ukazují, že celosvětově onemocní depresí každý rok zhruba 100 miliónů osob a depresivní epizodu prožije alespoň jednou za život téměř každý pátý z nás /20% žen a 10% mužů/.

Deprese je spojena s velkým subjektivním utrpením a vždy s narušením běžného denního fungování. Depresivní nemocní mají navíc 30krát vyšší riziko sebevraždy ve srovnání s normální populací.

Deprese ovlivňuje velkou měrou také rodiny nemocných a nepochybně má negativní celospolečenský dopad. Deník Guardian v roce 2005 uvedl, že náklady na depresivní onemocnění a vše s ním spojené činí v případě Spojeného království 9 biliónů britských liber ročně. Velkou část představují náklady plynoucí ze zhoršeného pracovního fungování nemocných.

Deprese má bohužel tendenci chronifikovat, nemocní mají přibližně 50% pravděpodobnost, že dojde k opakování epizody. Navíc někteří nezareagují dostatečně na podání antidepresiva, tudíž je označujeme jako rezistentní k léčbě.

Patogeneze deprese není dosud plně objasněna, ikdyž probíhá intenzivní výzkum. Přesto lze ze získaných dat presumovat několik axiomů, zejména pak spojitost deprese s nerovnováhou neurotransmiterů a narušenou citlivostí receptorů v mozku, dále pak fakt, že příčiny vzniku deprese se jeví jako multifaktoriální.

Nepochybně existuje těsná spojitost mezi endokrinním a centrálním nervovým systémem, přičemž většina endokrinních poruch může být provázena změnami psychiky a vice versa.

U afektivních poruch je nejčastěji zmiňováno narušení hypotalamo-pituito-adrenergní (HPA) osy, nicméně opakovaně byly různými studiemi potvrzeny také odchylky hypotalamo-pituito-thyroidální (HPT) osy.

Mezi nejčastějšími nálezy bývá uváděna změněná odpověď na podání hormonu uvolňujícího thyreotropin (TRH), přechodná sérová hyperthyroxinémie, oploštění diurnálního rytmu thyroïdního stimulačního hormonu a další.

Věda diskutuje několik hypotéz, které by mohly objasnit změny ve funkci HPT osy u afektivních poruch. Jednou z nich je názor, že by se mohlo jednat o formu centrálního subklinického hypothyroidismu spojeného se systémovým euthyroidismem nebo by mohlo jít o změny v důsledku sníženého množství serotoninu v mozku. Uvažuje se také o pozměněné aktivitě beta-adrenergních receptorů v CNS nebo o centrální dysregulaci hypotalamo-pituito-thyroidální a hypotalamo-pituito-adrenergní osy.

Spojitosť HPT osy s afektivními poruchami dokládá i účinnost thyroïdních hormonů v jejich léčbě. V současné době se užívá trijodthyroninu a thyroxinu především v terapii rezistentních forem. Vychází se z poznatku, že odchylky HPT osy mohou odrážet zvýšenou vulnerabilitu k relapsu onemocnění. V mnohých studiích se prokázal příznivý potenciační účinek trijodthyroninu na tricyklická antidepresiva, dosud však chybí kontrolované studie s jinými druhy antidepresiv. Thyroxin v suprafyziologických dávkách je účinný v terapii „rychle cyklující“ formy bipolární afektivní poruchy.

Propojenosť endokrinních a neuronálních systémů v rámci patogeneze deprese není vyjasněna. Při výzkumu jsme odkázáni na použití nepřímých metod, často se užívá buněčných modelů, zejména červených krvinek a krevních destiček; případně jejich membrán.

Roli při vzniku deprese mohou hrát také vlastnosti buněčných membrán v určitých oblastech mozku, které následně ovlivňují změny v neuromediátorových systémech. Charakteristika buněčné membrány by mohla hypoteticky rozhodovat o dostupnosti receptorového vazebného místa. Membránové vlastnosti jsou dány lipidovým složením a fluiditou membrán.

Dosud provedené studie prokázaly, že erythrocyty mohou hrát roli v krevním transportu thyroïdních hormonů a je pravděpodobné, že existuje souvislost mezi depresivním onemocněním a změnou parametrů vychytávání thyroïdních hormonů erythrocyty. Thyroxin (T4) prostupuje do červených krvinek volnou difúzí a L-trijodthyronin (L-T3) usnadněnou difúzí pomocí stereospecifického satureovatelného přenašečového systému nezávislého na Na⁺. Erythrocyty slouží jako cirkulující zásobník trijodthyroninu.

Tryptofan (prekurzor serotoninu) zřejmě sdílí stejný nebo podobný transportní systém jako L-T3 (tzv. systém T). L-T3 a L-tryptofan na sebe vzájemně působí kompetitivní inhibicí.

U pacientů s depresivním onemocněním se předpokládá, že následkem uvedeného vzájemného ovlivnění dojde při poruše ve vychytávání L-T3 erythrocyty v konečném důsledku k narušení syntézy mozkového serotoninu.

Kinetické parametry se mění také v souvislosti s léčbou antidepresivy, přičemž je předmětem dalšího výkumu, zda by se podle této změny daly odlišit farmakorezistentní pacienti od respondentů na léčbu. Farmakorezistenci a narušení parametrů transportu L-T3 lze možná vysvětlit také změnami lipidového složení erythrocytárních membrán, zejména v případě pokud by byl příslušný transportní protein závislý na lipidech.

Předmětem této výzkumné práce je potvrzení hypotézy, že změny v kinetických parametrech transportu trijodthyroninu přes erythrocytární membránu mohou být odrazem změn na centrální úrovni a že souvisí s onemocněním depresí, případně s rezistencí deprese na léčbu.

V teoretické části této práce jsou shrnuty základní poznatky o hypotalamo-pituito-thyroidní ose, depresivní poruše a jejich vzájemné souvislosti u afektivních poruch. Vzhledem k tomu, že se spojuje narušení funkce HPT osy u depresivních pacientů s farmakorezistencí, je zařazena kapitola o farmakorezistentní depresi. Začleněna je také kapitola mapující účinnost thyroïdních hormonů v léčbě afektivních poruch.

Úvodem k praktické části je teoretický souhrn tématu vychytávání thyroïdních hormonů do erythrocytu a tématu o fluiditě membrán, poté následuje vlastní prezentace výsledků výzkumné práce.

II. TEORETICKÁ ČÁST

1. HYPOTALAMO-PITUITO-THYROIDÁLNÍ OSA A JEJÍ FUNKCE

1.1. Thyreotropin uvolňující hormon – TRH; Protirelin; Thyreoliberin

Produkce hormonů hypotalamo-pituito-thyroidální osy probíhá obecně na 3 úrovních. Nejdříve se v peptidergických neuronech v supraoptickém a supraventrikulárním jádru hypotalamu produkuje tzv. hormon uvolňující thyreotropin - TRH (struktura pGlu-His-Pro-NH₂). Tento je následně přenesen a uskladněn v eminentia medialis hypotalami. TRH je poté vyplavován do hypofyzárního portálního oběhu a stimuluje výdej thyreotropinu, tj. thyreostimulačního hormonu – TSH, případně také prolaktinu a v patologickém případě i růstového hormonu.

Sekrece TRH je inhibována na základě zpětné vazby zvýšením hladin trijodthyroninu (T₃) nebo thyroxinu (T₄) v séru. Dále ji brzdí somatostatin, levodopa, snižují kortikoidy, serotonin a alfa-adrenergní antagonisté. Sekreci TRH naopak stimuluje snížení sérového T₃ a T₄, zvyšuje ji mírný chlad, noradrenalin, dopamin a alfa adrenergní agonisté. TRH vykazuje diurnální aktivitu s maximem pulzního výdeje v časných ranních hodinách. Hladina TRH v séru je 25-100pg/ml.

TRH splňuje některá kritéria pro neurotransmitter – je převážně lokalizován v synaptosomální frakci po hustotním gradientu, je uvolňován depolarizační koncentrací draslíku, váže se na vysokoafinitní CNS receptory. Spíše ho ale nazýváme neuromodulátorem. Struktura TRH je stejná u všech savců.

1.2. Thyreostimulační hormon – TSH, Thyreotropin

V area anteriomedialis adenohipofýzy se nacházejí buňky produkující glykoproteinový hormon TSH. Tyto buňky se začínají tvořit již 13. týden těhotenství, kdy zároveň začíná i produkce hormonu. TRH se váže na receptory výše uvedené oblasti hypofýzy a prostřednictvím zejména adenylátcyklásového systému a také za účasti mechanismu druhých a třetích posílů podmiňuje jeho syntézu a uvolňování. Neurosekreční granula v terminálním zakončení hypofýzy po impulzu ovlivní kapilární plexus arteria hypophysis superior a hormon je z hypofýzy uvolněn.

TSH se skládá z alfa a beta podjednotky. Alfa podjednotka (96 AK) je nespecifická /je součástí také luteinizačního hormonu - LH, folikulstimulujícího

hormonu - FSH a choriogonadotropinu - hCG/, beta podjednotka (113 AK) má specifickou biologickou aktivitu.

TSH se v buňce štítné žlázy naváže na plazmatický membránový receptor (750 AK a mol. hm. 85 000) a to tak, že extracelulární alfa podjednotka receptoru váže alfa i beta podjednotku TSH a beta podjednotka receptoru /která má malou intracelulární část - asi 80 AK/ ovlivňuje prostřednictvím G-proteinu cAMP. Zvýšení hladiny cAMP vyvolá TSH stimulaci vychytávání jodidu. V této vazbě jsou zapojeny i další systémy druhých poslů, např. Ca^{2+} a inositolový systém.

Thyreotropin se tedy funkčně účastní změn v morfologii thyreocytů i metabolismu jodu.

Produkce TSH je zpětně řízena hladinou T3 a T4, na úrovni hypofýzy TRH, ale také autoregulací štítné žlázy prostřednictvím příjmu jodu.

Inhibici výdeje TSH může způsobit somatostatin, dopamin, glukokortikoidy, či jakékoliv onemocnění. Sekreci TSH zvyšují například estrogeny. Výdej TSH je nejvyšší během noci. Uvolňování TSH probíhá v intervalech cca 2 hodin, pulsativně. Plazmatická koncentrace TSH je 0,5-5 umol/ml. TSH je druhově rozdílný.

1.3. Štítná žláza – syntéza hormonů

Štítná žláza je jedním z největších endokrinních orgánů. Vytvoří se v raném fetálním období, kdy má také svou funkci nezávislou na matce. Je složena ze dvou laloků, které jsou propojeny úzkou přepážkou, tzv. isthmem. Váží v dospělosti přibližně 10-20g a měří 2 x 2 x 0,5 cm. Mikroskopicky je štítná žláza složená z folikulů. Folikulární buňky jsou stimulovány TSH a syntetizují thyreoglobulin. V thyreoglobulinu probíhá proces syntézy hormonů štítné žlázy – trijodthyroninu (T3) a thyroxinu (T4). Thyreoglobulin je glykoprotein o 5496 AK.

Metabolismus jodu

Tvorba thyroïdních hormonů je odvislá od dostupnosti iodidu. Normální exogenní příjem jodu z potravy dnes činí v civilizovaných zemích přibližně 500 µg/den. Při příjmu nižším než 50 µg/den není schopna štítná žláza plnit svou funkci a dochází k hypothyreóze. Iod vstupuje do těla ve formě jodidového nebo jodátového iontu, který je v žaludku měněn na odid. Jodid je umístěn hlavně v extracelulární tekutině, ale přídatně v červených krvinkách nebo v intraluminární tekutině gastrointestinálního traktu. Část jodidu je aktivním transportem závislým na $Na^+ - K^+$ -

ATPáze přenesena přes bazální membránu do buněk štítné žlázy. Tato iodidová pumpa je stimulována TSH, saturevatelná velkým množstvím iontů jodu I^- a inhibována ionty ClO_4^- , SCN^- , NO_3^- , TcO_4 . Za 24 hod se transportuje zhruba 115 μ g jodidu. Přibližně 75 μ g z toho je využito k syntéze hormonů a zbytek se vrací zpět do extracelulární tekutiny. Transport jodu do štítné žlázy je regulovaný koncentrací TSH a autoregovaný přítomností jodidu ve štítné žláze. Štítná žláza je největší zásobárnou jodu (cca 8000 μ g), uloženého většinou ve formě jodovaných aminokyselin. V metabolismu jodu hrají velkou roli také ledviny, které odebírají jod z extracelulární tekutiny a filtrují ho, reabsorbují a částečně vyloučí močí. Při ledvinných onemocněních je potom metabolismus jodu narušen. Malá část jodu se přídatně vylučuje po konjugaci v játrech a následné glukuronizaci stolicí.

Syntéza a metabolismus hormonů štítné žlázy

Aktivně transportovaný jod je v thyrocytu oxidován, dochází k jodinaci tyrosylových zbytků thyreoglobulinu (za přítomnosti thyreoidální peroxidázy, jež je stimulována TSH) a vznikají hormonálně neaktivní jodthyrosiny. Tyto se spojují v hormonálně aktivní jodthyroniny, zejména 3,5, 3' trijodthyronin (T3) a thyroxin(T4). Část T4 a T3 je uvolněno do krve, část podléhá zpětné dejodinaci. T4 působí primárně jako prohormon pro T3 / přeměnou z T4 vzniká většina T3 a všechen rT3, což je neaktivní forma T3/. Plasmatické T4 má převážně funkci zásobárny v plasmě a to odráží i menší metabolickou clearance T4 oproti T3. T4 se přeměňuje na T3 hlavně ve tkáních s velkým krevním průtokem jako jsou játra nebo ledviny. Štítná žláza denně produkuje 100nmol T4, 5nmol aktivního T3 a méně než 5 nmol neúčinného reverzního rT3. Většina T3 vzniká degradací T4 pomocí enzymů dejodináz.

V lidském organismu rozlišujeme 3 typy dejodináz (typ 1,2,3). Dejodináza typu 1 (5'dejodináza) může odstranit jod z vnějšího i vnitřního okruhu T4, jejím úkolem je vytvářet T3 v plazmě. Je obsažena v játrech, ledvinách, štítné žláze. Inhibuje ji prophythiouracil a je snižena u hypothyreózy a zvýšená u hyperthyreózy. Typ 2 (5'dejodináza) dejodinizuje zevní kruh, jejím cílem je obstarávat intracelulární T3. Je obsažena v CNS, hypofýze, hnědém tuku a placentě. Je zvýšená u hypothyreózy a snižena u hyperthyreózy. Typ 3 může dejodinizovat na vnitřním kruhu T4 a T3 na rT3 (5dejodináza). Zvyšuje se u hyperthyroidismu a zřejmě působí

jako regulační mechanismus chránící mozek plodu, aby nebyl zahlcen excesivním množstvím T3.

Pouze malá část hormonů (0,04% T4 a 0,4% T3) je ve volné formě (fT4, fT3). Nevázané hormony jsou zodpovědné za hormonální aktivitu. V krvi jsou hormony štítné žlázy totiž převážně vázány na bílkoviny (99,96% T4 a 99,6% T3). T4 je napojen hlavně na thyroxin vázající globulin - TBG (70-80%), pak také na prealbumin nazývaný transthyretin, v malém množství i na albumin a minimum na lipoproteiny (3%). T3 je vázán na TBG a v malé míře i na albumin. Vazba na bílkoviny má v krvi dvojí funkci: jednak funguje jako cirkulující zásobárna hormonů (tj. působí jako pufrovací systém reagující na výkyvy funkce štítné žlázy) a brání ztrátě T3 a T4 do moči. Mezi vázaným T4 a volným T4 (fT4) musí být rovnováha. Dočasné snížení fT4 způsobené snížením výdeje štítné žlázy nebo zvýšeným vychytáváním cílových buněk je rychle kompensováno uvolněním T4 z vazby na bílkovinu až do stadia rovnováhy. Naopak, když je zvýšená hladina fT4, dochází ke kompenzaci navázáním T4 na TBG (normálně je zaplněno pouhých 30% vazebných míst pro T4). Podobné je to s T3, ale v daleko menší míře, protože extrathyroidální zásobárna T3 je asi 20x menší než T4. Podání T3 proto vede k daleko většímu výkyvu.

Hormony štítné žlázy jsou ve vazbě na bílkoviny transportovány přes buněčnou membránu k jádru, kde se navážou na specifický receptor. Tento intracelulární receptor je receptorový protein o mol. hmotnosti 50.000. T3 má asi 10x větší afinitu k tomuto receptoru než T4 a 100x větší než rT3. Komplex T3 a receptor se spojí s regulační částí („thyroid regulatory element“) a stimuluje nebo inhibuje DNA transkripci. Vazebná místa pro thyroidní receptory byla nalezena i mimo jádro - v mitochondriích, ribosomech (podílí se na asociaci mRNA s ribosomy) a v plazmatické membráně (úloha při membránovém transportu). U lidí je zaplněna asi polovina T3 nukleárních receptorů.

Transkripční působení T3 vyústí ve své účinky (viz tab1) až po charakteristickém zpoždění v hodinách či dnech.

Cerebrální T3 vzniká především dejodinací T4. Narušená aktivita D2 dejodinázy může být zodpovědná za snížení T3 a následně serotoninu v mozkové tkáni.

Téměř každý stres může způsobit změny metabolismu thyroidních hormonů.

FYZIOLOGICKÉ PŮSOBNÍ THYROIDNÍCH HORMONŮ

Vliv na spotřebu kyslíku a tvorbu tepla (zvýšení bazálního metabolismu)

Stimulace Na⁺ K⁺ATPázy ve všech tkáních kromě mozku, varlat a sleziny

Vliv na kardiovaskulární aparát

Pozitivní chronotropní a ionotropní efekt

Vliv na sympatikus

zvýšení počtu beta-adrenergních receptorů v srdci, svalstvu, tukové tkáni a lymfocytech

Vliv na plíce

Udržení normálních hypoxických a hyperkapnických vlivů v respiračním centru

Vliv na hematopoetický systém

Zvýšení produkce erytropoetinu a erytropoesa

Vliv na gastrointestinální trakt

Ovlivnění motility střev

Vliv na skelet

Stimulace kostního obratu

Vlivy neuromuskulární

Ovlivnění syntézy proteinů ve svalech, následné ovlivnění kontraktibility svalů

Vliv na lipidový a sacharidový metabolismus

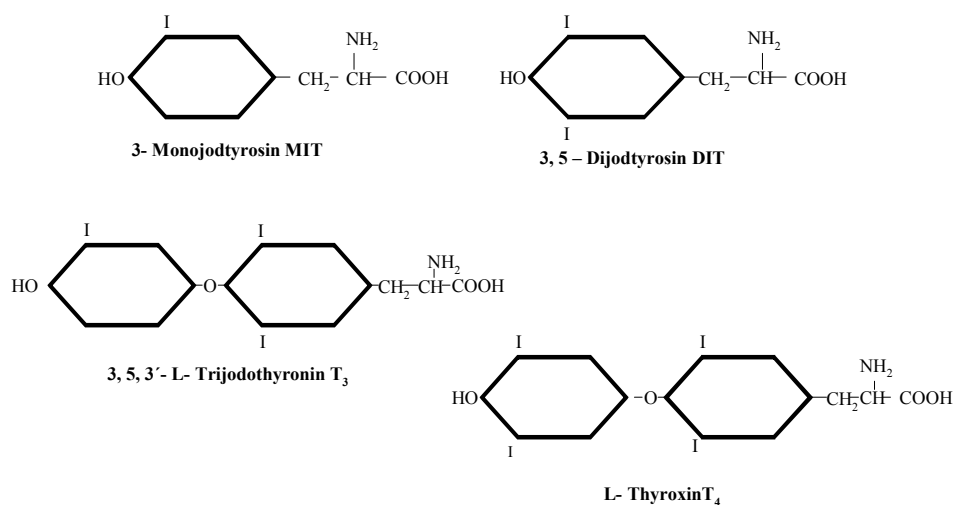
Ovlivnění lipolýzy a glukolýzy, syntézy cholesterolu

Vliv na vývoj plodu

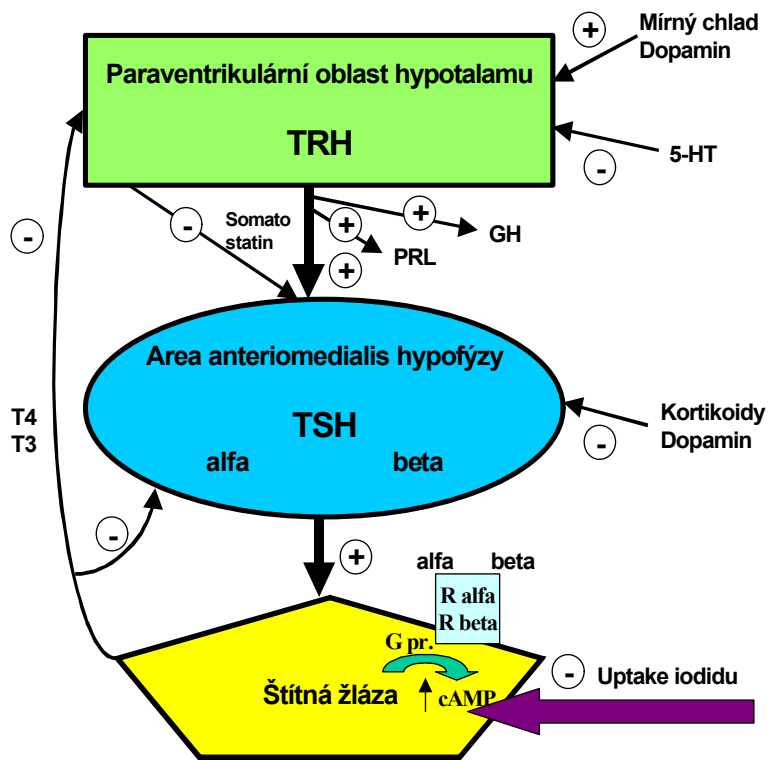
Ovlivnění vývoje mozku a zrání kostí

	T4 - Thyroxin	T3 - trijodthyronin	rT3
Hladina v séru			
Celkový (nmol/l)	103	1,84	0,51
Hladina v séru			
Volný (pmol/l)	27	4,3	3,69
Poločas v plazmě (d)	7	1	0,2

Tab.1 charakteristiky thyroïdních hormonů



Obr. 1 Schématické vyjádření struktury thyreoidálních hormonů



T3 se naváže na IC receptor → komplex → regulační element →
 ovlivnění transkripce DNA (mRNA) → proteosyntéza

Obr. 2 Hypotalamo-pituito-thyroidální osa, významné faktory potencující a inhibující její funkci. Převzato a upraveno dle Katzung B.G., 1991.

2. PORUCHY NÁLADY - FARMAKOREZISTENTNÍ DEPRESE

2.1. Poruchy nálady – obecný přehled

Poruchy nálady (afektivní poruchy) jsou velmi častá onemocnění spojená s vysokou hladinou morbidity a mortality. Základním příznakem afektivních poruch je změna nálady. Nálada je buď patologicky elevovaná, pak mluvíme o mánii nebo patologicky snížena – mluvíme o depresi. Specifickým předmětem zájmu předkládané dizertační práce je deprese, proto si dovoluji v dalším textu vynechat popis poruch nálady charakterizovaných náladou elevovanou /mánie/ a věnovat se pouze depresivní poruše.

O depresi dnes mluvíme jako o civilizačním onemocnění, které se vyskytuje poměrně často. Celoživotní prevalence deprese bývá uváděna mezi 8 – 20%. Dá se tedy obecně konstatovat, že určitou formou deprese trpí ve svém životě až každý pátý člověk ve vyspělé zemi. Deprese se vyskytuje hlavně v produktivním věku, mezi 25. a 35. rokem. Dvakrát častěji postihuje ženy. Je spojena se sníženou schopností fungovat, což má také značný ekonomický dopad.

Přibližně 15% nemocných s depresivní poruchou ukončí svůj život sebevraždou. Höschl (2002) připouští možnost, že afektivní porucha je přítomna dokonce na pozadí 70-80% suicidií v České republice.

Deprese se nevyhýbá nikomu, trpěla jí řada osobností, například L.van Beethoven, Vincent van Gogh, Virginia Woolfová, A. Lincoln, W. Churchill, aj.

V poslední době se informovanost o depresi zlepšila. Je lépe diagnostikována a léčena, což snižuje stigmatizaci depresí jako duševní poruchou.

Výzkum depresivní poruchy jde kupředu, ale mnoho věcí není ještě plně objasněno. Příčin vzniku se udává velká řada.

Klinický obraz afektivních poruch byl historicky popsán už ve starověku. Termín mánie a melancholie použil poprvé Hippokrates 400 let před naším letopočtem. Později se začaly afektivní poruchy klasifikovat. Dnes užíváme k členění poruch nálady evropského manuálu Mezinárodní klasifikace nemocí – 10. revize /MKN 10/ či americké verze Diagnostického a statistického manuálu duševních poruch – verze 4. /DSM IV/.

Poruchy nálady hodnotíme dle několika kritérií – 1) dle příčiny /primární a sekundární/ 2) dle polarity /unipolární, bipolární/, 3) dle intenzity /lehká, středně těžká, těžká, s psychotickými rysy/ a 4) délky trvání /cyklotymie, dysthymie/.

Podle klasifikace MKN-10 používané v České Republice je základním příznakem depresivní poruchy depresivní nálada, která je pro daného člověka nenormální, přetrvává každodenně po většinu dne nejméně 2 týdny a není ovlivněna vnějšími okolnostmi. Dále mezi hlavní příznaky řadíme ztrátu zájmu a prožitku radosti z aktivit, které nemocného dříve těšily a snížené množství energie spojené se zvýšenou únavností.

Mezi přídatné příznaky patří 1) ztráta sebedůvěry nebo sebeúcty, 2) neoprávněné sebevčítky nebo pocity viny, 3) vracející se myšlenky na smrt nebo sebevraždu, 4) snížená schopnost přemýšlet nebo se soustředit, 5) změna psychomotorické aktivity s agitovaností nebo retardovaností, 6) poruchy spánku jakéhokoliv druhu, 7) změna chuti k jídlu (zvýšená nebo snížená s odpovídající změnou hmotnosti).

Členění dle intenzity depresivní poruchy uvádí tabulka 3.

Některé příznaky deprese jsou klinicky obzvlášť významné, svědčí pro endogenitu (vnitřní příčinu) onemocnění a nazývají se somatickým syndromem. Tento syndrom charakterizuje ztráta zájmů, snížení emoční reaktivity, ranní probouzení, ranní pesima, psychomotorický útlum nebo agitovanost, ztráta chuti k jídlu, úbytek hmotnosti a snížení libida.

U psychotické deprese jsou navíc přítomny poruchy myšlení - bludy, poruchy vnímání ve smyslu halucinací se objevují méně často. Bludy mohou být buď v souladu s náladou – hypochondrické („trpím nevyléčitelnou nemocí“), ruinační („seberou nám majetek“), negační („nic není, neexistuje“), nihilistické („svět se řítí do zkázy“) aj. nebo nesouvisející s náladou - např. paranoidní, persekuční.

Deprese je onemocnění často chronifikující. Thase (1990) uvádí, že riziko rekurence onemocnění je po 1. depresivní epizodě 50%, po 4. atace je to 90%. Z tohoto důvodu je důležité zahájit včas léčbu a ponechat pacienta na medikaci dostatečně dlouhou dobu (doporučuje se minimálně 3 -6 měsíců při první epizodě). Neúplná úzdrava vede k častějšímu relapsu onemocnění.

K hodnocení tíže deprese užíváme validizovaných škál, které odrážejí pohled lékaře - Hamiltonova škála pro depresi (HAMD) nebo Škála Montgomeryho a

Asbergové (MADRS) event. subjektivní hodnocení pacienta - Beckova sebehodnotící škála (BDI) nebo Zungova sebehodnotící škála (SDS).

V terapii deprese používáme léčbu farmakologickou – antidepresiva /přehled v tabulce 4/ a nefarmakologickou – psychoterapii, eventuelně elektrokonvulsivní terapii, fototerapii, nověji transkraniální magnetickou stimulaci či stimulaci nervu vagu.

PŘEHLED PŘÍZNAKŮ DEPRESIVNÍ PORUCHY

Patologicky snížená nálada minimálně 2 týdny

Ztráta nebo snížení zájmů

Snížené množství energie – únava

Neschopnost prožívat radost

Pocity beznaděje a bezvýchodnosti

Ranní pesima

Pocity viny, sebeobviňování a podceňování se

Poruchy spánku zejména ve smyslu insomnie

Psychomotorický útlum

Poruchy soustředění

Úzkost

Plačtivost

Změna chuti k jídlu

Změna hmotnosti

Snížení libida

Zaměření na tělesné zdraví

Tělesné příznaky

SEBEVRAŽEDNOST

Psychotické příznaky – bludy

Tab. 2 Obecný přehled příznaků deprese

Intenzita deprese	Diagnostické kritérium
LEHKÁ	2 příznaky hlavní + 1-2 přídatné, celkem 4 z 10 dg příznaků
STŘEDNĚ. TĚŽKÁ	2 příznaky hlavní + 3-4 přídatné, celkem 6 z 10 dg příznaků
TĚŽKÁ	3 hlavní + minimálně 5 přídatných
S psychotickými rysy	Přítomnost bludů, event. halucinací

Tab. 3 Rozdělení deprese dle intenzity symptomů

Rozdělení antidepresiv podle mechanismu účinku

Inhibitory vychytávání monoaminů	Přímé ovlivnění receptorů	Inhibitory biodegradace
<u>1. generace</u> - tricyklicka (amitriptylin, nortriptylin, imipramin aj.) - tetracyklicka (dosulepin, maprotilin)	<u>α_2 – blokátory</u> - mianserin mirtazapin	<u>Inhibitory MAO</u> <u>1. generace</u> - neselektivní - ireverzibilní (tranylcypromin)
<u>2. generace</u> – heterocyklicka (viloxazin)	<u>Agonisté 5-HT_{1A}</u> – buspiron gepiron	<u>2. generace</u> – selektivní IMAO – A reverzibilní (moclobenid) IMAO – B ireverzibilní (selegilin)
<u>3. generace</u> – SSRI (citalopram, fluoxetin, sertralin aj.) SARI (trazodon, nefazodon) NARI (reboxetin) DARI (amineptin)		<u>Inhibitory COMT</u>
<u>4. generace</u> – SNRI (venlafaxin, milnacipran)		
<u>5. generace</u> – SNDRI		

COMT – katechol-O-methyltransferáza; DARI – inhibitor zpětného vychytávání dopaminu; IMAO-A,B – inhibitor monoaminoxidázy typu A nebo B; NARI – inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu; NDRI – inhibitor zpětného vychytávání noradrenalinu a dopaminu; SARI – serotoninový antagonist a inhibitor zpětného vychytávání serotoninu; SNDRI – inhibitor zpětného vychytávání serotoninu, noradrenalinu a dopaminu; SSRI – selektivní inhibitor zpětného vychytávání serotoninu.

Tab. 4 Přehled antidepresiv. Podle Švestka, 2001, Bareš, 2004

2. 2 Etiopatogeneze afektivních poruch

Jednoznačná příčina vzniku afektivních poruch není dosud plně známa, přestože probíhá na tomto poli rozsáhlý vědecký výzkum. Etiologie se zdá být multifaktoriální. V současnosti nahlížíme na depresivní poruchu pohledem biopsychosociálního modelu. Psychosociální faktory tvoří významnou složku podílející se na vzniku a udržování deprese. Do psychosociálních hypotéz vzniku deprese řadíme hlavně model kognitivně behaviorální terapie a model psychodynamický. V této práci si dovoluji obsáhlý popis uvedených psychosociálních modelů vynechat, protože jde o práci zaměřenou biologickým směrem. V následujícím textu bych tedy chtěla nastínit hlavní hypotézy z pohledu biologické psychiatrie (viz tabulka 5). Uvedené přístupy jsou dozajista vzájemně ovlivněny. Vycházejí z toho, jak se ubíral výzkum jednotlivých biomedicínských oborů.

HYPOTÉZA	PŘÍSTUP	NÁLEZ
A. Neurochemické	Neuromediátory Receptory Postreceptorové procesy	Dostupnost, metabolismus Počet, afinita, senzitivita G-proteiny, druhé posly, fosforylace, defosforylace, transkripce
B. Biologické	Stres Chronobiologie Genetika	Zvýšená biologická citlivost po opakování určitých událostí Desynchronizace biol. rytmů Dědičnost a vulnerabilita k depresi
C. Imunoneuroendokrinní	Osa HPA Osa HPT Imunitní funkce	Změna aktivity při depresi Změna aktivity při depresi Různé změny při depresi

Tab. 5 Biologické přístupy hypotéz depresivní poruchy. Upraveno dle Fišar, 2001

A. Neurochemické hypotézy

Vycházejí ze sledování narušení přenosu signálu přes synapsi. Můžeme je rozdělit na mediátorové, receptorové, postreceptorové a ostatní (tab 5,6). Jednotlivé neurochemické hypotézy byly formulovány časem a jsou odrazem stupně poznání.

Biochemické změny týkající se mediátorových systémů

Mediátorové hypotézy deprese jsou obecně odvozeny od snížené dostupnosti neuromediátorů v synaptické štěrbíně. Ke snížení může dojít jednak nedostatečnou syntézou mediátorů a tudíž nabídkou v synapsi, zvýšeným odbouráváním mediátorů či jejich nedostatečným zpětným vstřebáváním.

Z mediátorů a neuromodulátorů byly u depresivní poruchy studovány zejména monoaminy serotonin /5-hydroxytryptamin; 5-HT/, noradrenalin a dopamin; dále acetylcholin, gama amino máselná kyselina a některé další neuropeptidy (vasopresin, endogenní opiáty).

Podpořením neuromediátorových hypotéz byl fakt, že některé prekurzory mediátorů měly antidepresivní efekt /např. tryptofan jako prekurzor serotoninu/. Navíc existovalo dříve přesvědčení, že by odrazem množství mediátorů v mozku byla hladina prekurzorů, případně jejich metabolitů nebo enzymů v krvi nebo moči.

U katecholaminů je přítomen metabolit 3-metoxy-4-hydroxyfenylglykol (MHPG) v moči, plazmě, likvoru, u serotoninu 5-hydroxyindolactová kyselina (5-HIAA) v moči, plazmě, likvoru a dopamin se metabolizuje na homovanilovou kyselinu (HVA). Počítalo se s tím, že nízké hladiny těchto metabolitů reflektují nízkou presynaptickou aktivitu mediátoru. Bohužel se v dalších letech neprokázala jasná spojitost hladin prekurzorů či mediátorů s depresivním onemocněním. Kdybychom vycházeli z pravdivosti hypotéz nedostatečného množství neuromediátoru, stačilo by tento chybějící prvek tělu dodat například ve formě prekurzoru, případně by se zabránilo odbourávání mediátoru ve štěrbině a deprese by byla vyléčena. Toto se však neděje vždy. V současné době je zřejmé, že nižší dostupnost 5-HT a NA je důležitým, ale ne hlavním faktorem při vzniku deprese. Mediátorové hypotézy znázorňuje tabulka 6.

V dalších letech bylo zjištěno, že na vzniku deprese se nepodílí jen nedostatek mediátorů, ale také citlivost receptorů, což vedlo k formulování receptorových hypotéz.

Receptorové hypotézy

Receptorové hypotézy operují se vznikem zvýšené citlivostí, afinity a počtu pre- i post-synaptických receptorů v mozku osob s depresí. Tento funkční stav receptorových systémů vzniká zřejmě jako následek nedostatečné nabídky neuromediátorů ve štěrbině nebo naopak může tato hypersenzitivita kompenzačně způsobit snížení syntézy katecholaminů. Receptorové hypotézy se opírají o mechanismus účinků antidepresiv.

Hypotézy postreceptorové

Postreceptorové hypotézy byly formovány na konci 80. let 20. století a zaměřují se na poruchu části přenosu signálu, kde se může projevit efekt dvou a více

signálních systémů v jednom neuronu. Soustředí se tedy na děje v plazmatické membráně, cytoplazmě a buněčném jádře dané aktivací receptoru. K poruchám může docházet změnami G proteinů, či druhých a třetích poslů.

Molekulárně biologické teorii deprese je v současnosti věnována velká pozornost. Vychází z předpokladu spojitosti stresu s depresí. Chronický stres vede ke snížené expresi neurotrofního faktoru BDNF /brain derived neurotrophic factor/ v hipokampu a následně k hipokampální atrofii. Dlouhodobá antidepressivní léčba naopak vede k expresi BDNF a protektivnímu efektu proti neurotoxickému působení stresových kortikosteroidů.

Membránová hypotéza předpokládá, že deprese vzniká důsledkem změn vlastností buněčných membrán v určitých oblastech mozku, které následně ovlivňují změny v mediátorových systémech. Charakteristika buněčné membrány by mohla hypoteticky rozhodovat o dostupnosti receptorového vazebného místa. Membránové vlastnosti jsou dány lipidovým složením a fluiditou membrán. Vliv lipidového složení membrán byl popsán u 5-HT receptorů, beta-adrenergických a α 1-adrenergických receptorů. Jako periferního modelu při studiu membrán používáme membrány erytrocytární.

B. Biologické hypotézy

Narušení biorytmů

V etiopatogenezi afektivních poruch může hrát roli také porucha biochemických rytmů event. oscilátorů. Hlavním oscilátorem se jeví zejména suprachiasmatické jádro hypotalamu, které je odpovědné za cirkadiální změny v organismu. Hypotéza narušení biorytmů by vysvětlovala například poruchy spánku u deprese nebo její inklinaci k sezónnosti výskytu. Výsledky jsou zatím nekonzistentní, v americké klasifikaci DSM-IV však existuje sezónní depresivní porucha.

Sekundárně by bylo možné ovlivnění hormonálních a mediátorových systémů.

Genetické faktory

Hereditární hypotézy vycházejí ze studií dvojčat, adopčních a rodinných studií. Konkordance jednovaječných dvojčat pro afektivní poruchy je 65%, dvojevaječných 14%. Dle vazebných studií jsou zatím potenciální lokusy na chromozomech 18, 21, 4 a X. Jde zřejmě o dědičnost podmíněnou více geny.

D. Imunoneuroendokrinní změny

Změny imunity

U afektivních poruch byly opakovanými výzkumy zjištěny změny humorální i celulární imunity. U některých pacientů s depresí se nacházejí protilátky proti viru Epstein-Barrové nebo cytomegaloviru. Až 30% depresí vykazuje pozitivitu antinukleárního faktoru, který je odrazem některých autoimunitních onemocnění.

Stále častěji je věnována pozornost roli cytokinů, které mohou být spolupodílníky klinických depresivních příznaků jako je hypobulie, malátnost aj. Dříve se uvažovalo o imunosupresi u deprese, dnes spíše o určité aktivaci imunitního systému spojené se sekrecí cytokinů (IL-1, IL-6, TNF-alfa) monocyty a makrofágy. (Leonard, Song, 2000; Maes, 1999; Irwin, 2002).

Imunitní hypotéza bývá slučována s hypotézou hyperfunkce HPA osy pod hypotézu imunoendokrinní. Při stresu dochází k vylučování faktoru uvolňujícího kortikotropin (CRF), ten ovlivňuje sekreci ACTH a následně kortikoidů. Tyto se účastní aktivace imunitního systému. Dosud není jisté, zda je první aktivace imunitního systému nebo aktivace osy HPA.

Psychoendokrinní změny

Většina endokrinních poruch může být provázena změnami psychiky a naopak u afektivních poruch zjišťujeme změny funkce endokrinních systémů. Pozornost je věnována zejména hypotalamo-pituito- adrenergní (HPA) ose a hypotalamo-pituito-thyroidální (HPT) ose. Funkčnost endokrinních os je zjišťována prostřednictvím stimulačních testů. Při stresu dochází k aktivaci HPA osy, což se projeví zvýšeným vylučováním CRF, následně ACTH a kortikoidů. Dojde k zapojení zpětné vazby. Při depresi je zpětná vazba narušená. Změny hypotalamo-pituito-thyroidní osy jsou podrobně popsány v další kapitole.

PŘEHLED NEUROCHEMICKÝCH HYPOTÉZ AFEKTIVNÍCH PORUCH

1. NEUROMEDIÁTOROVÉ

- o snížení koncentrací 5-HT a katecholaminů
- katecholaminová
- indolaminová
- cholinergní-adrenergní
- dopaminová
- biogenních aminů
- permisivní (5-HT + NA)
- monoaminová

2. NEUROMEDIÁTOROVÉ/ RECEPTOROVÉ

- Katecholaminové** - biogenních aminů
- klasická noradrenalinová
 - obecná katecholaminová
 - o spojení serotoninergních a noradrenergních systémů
 - o úloze presynaptických α_2 -AR
 - o úloze postsynaptických α_2 -AR
 - sjednocující adrenoreceptorová
- Serotoninové**
- o dostupnosti L-tryptofanu
 - obecná serotoninová receptorová
 - receptorová o propojení 5-HT a NA systémů
- Ostatní receptorové** - dysregulační
- endogenního ligandu
 - cholinergní-adrenergní
 - GABA-ergní
 - peptidergní
 - sjednocená neurochemická teorie

3. POSTRECEPTOROVÉ

- nerovnováha druhých posílů
- inositolová
- G-proteinové
- molekulární model (G-proteiny, fosfatázy a transkripční faktory)
- molekulární a buněčná

4. JINÉ

- transportní
- membránové aj.

Tab 6 Přehled hlavních neurochemických hypotéz. Upraveno dle Fišar, 2001

2.3 Deprese rezistentní na léčbu („Treatment resistant depression“ – TRD)

Některé osoby trpící depresivní poruchou neodpovídají adekvátně na antidepressivní terapii, označujeme je rezistentní k léčbě. Přibližně 50% osob nezareaguje dostatečně na podání prvního antidepressiva, na druhý léčebný pokus jiným antidepressivem opět neodpoví asi 50% pacientů, tzn. 25% bývá označováno jako rezistentní k léčbě nejméně dvěma antidepressivy.

Důsledkem přetrvávající deprese vlivem nedostatečně úspěšné léčby je snížené sociální fungování a zvýšené riziko suicidia.

Definici deprese rezistentní na léčbu (TRD) existuje několik. Rezistence bývá nejčastěji určována jako neodpověď na léčbu adekvátní dávkou antidepressiva po dostatečně dlouhou dobu. Podrobnější definice vyžaduje nedostatečnou odpověď na 2 antidepressiva z různých skupin podávaná v účinné dávce po dobu 4-6 týdnů (Thase, 2003). Odpověď na léčbu bývá stanovena jako pokles depresivních příznaků o 50% na škále pro hodnocení deprese (např. HAMA, MADRS). Může však dojít k situaci, že někteří pacienti mají vstupní hodnotu deprese na škále vyšší a tudíž snížení o 50% může znamenat pro některé nemocné stále ještě hodnoty odpovídající například středně těžké depresi. Z tohoto důvodu je v poslední době jako léčebná odpověď většinou vyžadována remise, tj. dosažení stavu, kdy je pacient po léčbě bez příznaků deprese. Ve studiích se odpověď na léčbu hodnotí kvantitativně hodnotou na hodnotící škále pro depresi – např. HAMD \leq 7 bodům, MADRS \leq 12 bodům.

Je také sporné, co lze považovat za adekvátní dávku antidepressiva. U tricyklických antidepressiv nám může být nápomocna účinná plazmatická hladina antidepressiva. U jiných antidepressiv (SSRI) hladina v plazmě neodpovídá účinku a tudíž se zde musíme držet doporučeného dávkování. Dostatečně dlouhá doba léčby je ve většině prací udávána minimálně 6 týdnů.

Do roku 1997 nebyla používána žádná jednotná kritéria pro hodnocení stupně rezistence na léčbu. Dnes existuje přibližně 15 klasifikací TRD. V dalším textu se budu snažit přiblížit alespoň ty nejpoužívanější.

První klasifikace TRD byla vypracována v roce 1997 Thasem a Rushem a někteří psychiatři ji používají dodnes (tab 7). Tato klasifikace bohužel neoperuje s dávkou antidepressiva ani s délkou léčby. Používá určitou hierarchii léků, jejíž platnost nebyla v dalších výzkumech jednoznačně potvrzena. Thase například ve své studii z roku 2002 nenašel rozdíl mezi přidáním TCA a SSRI. Klasifikace dále hodnotí

výměnu antidepresiva za druhé z jiné třídy jako účinnější než v rámci jedné třídy. Toto, ač potvrzeno studií Poiriera a Boyera z roku 1999, bylo vyvráceno studií Thase z roku 2001, která neshledala žádnou převahu výměny SSRI za mirtazapin ve srovnání s medikací jiným SSRI. Největší slabinou klasifikace je to, že nezahrnuje augmentační léčbu.

Poněkud modernější jsou operační kritéria pro hodnocení rezistentní deprese navržená Soeurym v roce 1999 (tab 8). Tato se opírají hlavně o délku léčby, berou v úvahu také počet léčebných pokusů. Při neúspěšné léčbě nad 1 rok, je deprese označována jako chronická.

Nesoučasnější klasifikací je Massachusettská klasifikační metoda (Fava a spol., 2003), která zahrnuje počet neúspěšných léčebných pokusů a intenzitu každého pokusu. Na druhé straně nebere v úvahu třídy antidepresiv (tab 9).

Často se stává, že bývá deprese prohlášena za rezistentní na léčbu, i když existuje odstranitelný důvod nedostatečné odpovědi. Depresi v takovém případě označujeme jako pseudorezistentní. Pseudorezistenci může způsobit podávání antidepresiva příliš krátkou dobu nebo v nedostatečné dávce. Může jít o špatnou diagnózu deprese u pacienta trpícího některým interním onemocněním nebo jiným psychiatrickým onemocněním. Je nutné brát v úvahu také možnou diagnostickou komorbiditu, lékové interakce či přítomnost stresorů (Tab 10).

Dosud provedené vědecké práce identifikovaly určité prediktory toho, proč deprese nemusí odpovídat na léčbu. Může jít o určitou atypii deprese – například přítomnost melancholických rysů či psychotických příznaků. Roli hraje také déletrvající neléčení depresivních příznaků.

Deprese je hůře léčitelná při přítomnosti určité psychiatrické komorbidity například úzkostné poruchy (Fava a spol., 1997; Alpert a Lagomasino, 2001), poruchy osobnosti (Thase, 1996, Black, 1991) nebo abusu alkoholu (Nunes a spol., 1996).

Podobný vliv mohou mít interní komorbidity jako jsou kardiovaskulární choroby, hypercholesterolémie, hypothyroidismus, diabetes aj. (Oslin a spol., 2002; Sonawalla a spol., 2002).

Zdá se také, že osoby starší a také osoby užívající současně anxiolytika mají horší odpověď na léčbu a sklon k chronicitě deprese. (Bosworth a spol., 2000).

Vliv má nepochybně i kontext prostředí - větší stresory a negativní životní zkušenosti (Keller, 1986), chronický stres a nižší socioekonomický status (Thase a Kupfer, 1987).

Byly identifikovány také některé neurobiologické koreláty TRD. Některé EEG změny mohou být markery neodpovědi na léčbu, např. zkrácená REM latence (Szuba, 1991).

Zobrazovací metody poukazují na možnou spojitost TRD a pravé frontostriální atrofie (Shah,2002), změn v levém hipokampu, redukce objemu frontálních laloků (Coffey a spol.,1993), subkortikální hyperintensity v šedé hmotě (Steffens, 2001), hyperintensity v bílé hmotě (Hickie et al., 1995) a jiné.

Roli v chronicitě deprese mohou hrát také genetické aspekty. Nelson a Dunner ve své studii z roku 1995 poukazují na to, že pacienti s TRD mají častěji rodinnou anamnézu deprese.

Bylo studováno mnoho dalších laboratorních charakteristik a mnoho nálezů bylo spojeno s horší odpovědí na léčbu. Patří mezi ně například parametry změn HPA (Wolkowitz a Reus, 2001) a HPT osy (podrobněji v kapitole 3).

STAGING DEPRESE REZISTENTNÍ NA LÉČBU - Thase&Rush, 1997

STUPEŇ 1:	selhání léčebné odpovědi na léčbu jedním antidepresivem
STUPEŇ 2:	selhání léčebné odpovědi na léčbu 2 antidepresivy z různých skupin
STUPEŇ 3:	stupeň 2 + není odpověď na léčbu 3. antidepresivem, včetně TCA
STUPEŇ 4:	stupeň 3 + selhání léčebné odpovědi na léčbu MAOI
STUPEŇ 5:	stupeň 4 + selhání léčebné odpovědi na sérii ECT

Tab. 6 Klasifikace deprese rezistentní na léčbu, Thase a Rush, 1997

OPERAČNÍ KRITÉRIA pro DEFINOVÁNÍ DEPRESE REZISTENTNÍ NA LÉČBU (TRD) A CHRONICKÉ REZISTENTNÍ DEPRESE (CRD)

A (neodpověď na léčbu)	Není odpověď na adekvátní antidepresivní léčbu (TCA, SSRI, IMAO, SNRI nebo ECT, či jiné) <i>Délka léčby 6-8 týdnů.</i>
B (TRD)	Rezistence po 2 a více léčebných pokusech. <i>Stupeň 1: trvání léčby 12-16 týdnů</i> <i>Stupeň 2: trvání léčby 18-24 týdnů</i> <i>Stupeň 3: trvání léčby 24-32 týdnů</i> <i>Stupeň 4: trvání léčby 30-40 týdnů</i> <i>Stupeň 5: trvání léčby 36 týdnů až 1 rok</i>
C (CRD)	Rezistence na léčbu po několika léčebných pokusech Zahrnuje augmentaci léčby <i>Délka léčby minimálně 1rok</i>

Tab. 7 Klasifikace deprese rezistentní na léčbu, Souery et al., 1999

METODA KLASIFIKACE DEPRESE REZISTENTNÍ NA LÉČBU vytvořená Massachusetts General Hospital

1)	Neodpověď na každou adekvátní léčbu (min 6 tý) antidepresivem v adekv. dávce + 1 bod
2)	Optimalizace dávky či trvání, augmentace/kombinace + 0,5 bodu
3)	ECT + 3 body

Tab. 8 Klasifikace deprese rezistentní na léčbu, Fava, 2003

MOŽNÉ DŮVODY REZISTENCE - PSEUDOREZISTENCE

Podávání antidepresiva krátkou dobu
Podávání antidepresiva v nedostatečné dávce
Špatná diagnóza (dif. dg. porucha osobnosti, vaskulární demence aj.)
Nedostatečná spolupráce pacienta v léčbě (non-compliance)
Nerozpoznaná komorbidita (př. abusus alkoholu či drog, porucha osobnosti, interní..)
Přítomnost trvalého psychosociálního stresu u pacienta
Rozdílná farmakokinetika léčiv u různých osob
Současné užívání jiného léku ovlivňující farmakokinetiku antidepresiva
Neadekvátní očekávání lékaře

Tab. 9 Možné důvody pseudorezistence

2.4 Léčba deprese rezistentní na léčbu

Terapeutické přístupy k léčbě TRD rozdělujeme na farmakologické a nefarmakologické. Farmakologická léčba TRD zahrnuje výměnu antidepresiva, kombinaci antidepresiv a augmentaci antidepresivní léčby. Nefarmakologickými postupy rozumíme přidání psychoterapie, užití elektrokonvulzivní terapie, transkraniální magnetické stimulace nebo stimulace nervu vagu.

TERAPEUTICKÉ POSTUPY – Deprese rezistentní na léčbu

- 1) Výměna antidepresiva v rámci jedné skupiny
- 2) Výměna antidepresiva za antidepresivum z jiné skupiny
- 3) Augmentace
- 4) Kombinace antidepresiv
- 5) Přidání psychoterapie
- 6) ECT
- 7) rTMS
- 8) Stimulace nervus vagus

Tab. 11 Léčba deprese rezistentní na léčbu

FARMAKOLOGICKÁ LÉČBA TRD

V současnosti existuje širší spektrum farmakologických prostředků, než tomu bylo dříve. Mnoho psychiatrů proto při léčbě TRD volí léky, které sice nejsou tak prověřené placebem kontrolovanými studiemi, avšak mají např. menší nežádoucí účinky.

Všeobecně se výzkum na poli farmakorezistentní deprese potýká s nedostatkem dvojité slepých studií. Rezistentní depresi je obtížné studovat pro její různorodost a nesourodost, individuální délku trvání, počet léčebných pokusů a širokou komorbiditu.

1) Výměna antidepresiva v rámci jedné skupiny

V současné době se nejčastěji jako lék první volby podává antidepresivum ze skupiny SSRI /specifický inhibitor zpětného vstřebávání serotoninu/ zvyšující množství serotoninu v mozku. Několik otevřených studií potvrdilo nasazení jiného antidepresiva z této skupiny jako účinné. Zhruba 50-60% pacientů rezistentních k léčbě prvním SSRI odpovědělo na podání druhého preparátu z této skupiny.

2) Výměna antidepresiva za antidepresivum z jiné skupiny

Většinou je snaha vybrat lék, u něžž byla prokázána účinnost a který by případně svým širším receptorovým spektrem působil na přítomné rysy depresivní poruchy. Nevýhodou změny antidepresiva proti například augmentaci je riziko syndromu z vysazení.

V poslední době byla prokázána obdobná účinnost pokud se nahradí SSRI mirtazapinem, který duálně zvyšuje množství noradrenalinu a serotoninu působením na α_2 -receptory nebo dalším SSRI (Thase 2001). Léčebný efekt při podání mirtazapinu je však ve srovnání s SSRI časnější (Thase a spol., 2004; Guelfi a spol., 2001). Při podávání mirtazapinu se můžeme obávat větší sedace a přírůstku na váze.

Při výměně SSRI za venlaxaxin, který působí jako inhibitor reuptake noradrenalinu a serotoninu, byla dokonce hodnocena větší účinnost než při výměně za jiné SSRI (Poirer a Boyer, 1999). Studie doporučují obvykle podávat venlafaxin u depresí rezistentních na léčbu ve vyšší dávce. U tohoto preparátu se však při podávání vyšších dávek výjimečně můžeme obávat vzestupu krevního tlaku.

Dále byl studována možnost výměny SSRI za nefazodon /serotoninový antagonist a zároveň inhibitor reuptaku/ a bupropion /inhibitor reuptaku noradrenalinu a dopaminu/. Tyto však byly zkoumány jen na malých vzorcích pacientů s TRD a dosud nebyla provedena větší dvojité slepá studie.

Výměnu SSRI za TCA a IMAO většinou používáme až při těžší farmakorezistenci a po vyčerpání možností léčby novějšími výše uvedenými antidepresivy a to zejména pro závažnost nežádoucích účinků.

3) Kombinace antidepresiv

Znamená přidání antidepresiva ze stejné nebo jiné skupiny ke stávajícímu antidepresivu (Fava, 2000) . Většinou se přidává antidepresivum z jiné skupiny, aby došlo k pokrytí většího receptorového spektra. Až 85% pacientů prokázalo při kombinaci zlepšení (Nelson, 1991). Snažíme se obecně dosáhnout co nejlepší kombinace mechanismu účinků.

Nejvíce kontrolovaných studií se týká přidání TCA k SSRI. Zde se ovšem musí dát pozor na lékovou interakci. TCA je substrátem cytochromu P450 izoenzymu 2D6 a SSRI jsou jeho inhibitory, tudíž může dojít ke zvýšení plazmatických hladin TCA

v důsledku jeho akumulace a k závažným kardiologickým a neurotoxickým nežádoucím účinkům (Klein, 2004, Taylor, 1995).

Účinnost byla prokázána také přidáním IMAO k TCA (Schmauss, 1998). V tomto případě je vhodné dát pozor na nebezpečí vzniku serotoninového syndromu.

V několika málo studiích bylo s pozitivním efektem zkoušeno přidání jednoho SSRI k druhému (Bondolfi, 1996), k mianserinu /silný antagonist 5HT₂ receptorů a antihistaminový efekt/ (Ferreri, 2001, Maes, 1999), mirtazapinu / Carpenter RR, 2002/ a bupropionu /De Battista C, 2003/

Přidání IMAO k TCA může vést k závažným nežádoucím účinkům (hypertenze, epi paroxysmy ad.)

4) Augmentace

Augmentace má proti výměně antidepressiva tu výhodu, že se vyhneme obtížím spojeným s přerušением původní léčby a tím je léčebná odpověď rychlejší (Thase, 1998). Dochází ke komplexnějšímu ovlivnění neurotransmitterových a receptorových systémů. Nevýhodou může být hlavně potenciace vzniku nežádoucích účinků a vyšší cena léčby. Doporučená doba augmentace je 2 – 6 týdnů.

Psychostimulancia

Přidání psychostimulancií (např. Methylphenidat) je jednou z nejstarších užívaných metod augmentace. Dnes se jedná pro obavu ze závislosti a nežádoucích účinků (zvýšení tenze, paranoidita) o metodu obsolentní. Existují studie augmentace TCA, IMAO a také SSRI (Stoll, 1996), žádná z uvedených studií však nebyla kontrolovaná placebem.

Lithium – jeho podávání bylo popsáno již v roce 1949. Je to alkalický kov, který se vylučuje ledvinami bez metabolizace. Dodnes není známo co všechno přesně lithium ovlivňuje, obecně se dá říct, že podporuje serotoninergní systém ovlivněním druhých posílů. Poprvé byla zmíněna jeho účinnost v léčbě rezistentní deprese v roce 1981 (de Montigny, 1981). V léčbě rezistentní deprese je jeho podávání nejobsáhleji prozkoumané. Podával se hlavně s TCA a IMAO. Při augmentaci SSRI je zvýšené riziko toxicity a zároveň nepříliš dobrá léčebná odpověď. Lithium dnes není ve světě podávané v takové míře jako dříve, protože v současné době existuje širší léčebné

spektrum a nežádoucí účinky lithia jsou relativně velké. Nicméně stále patří mezi lék, jehož efektivita v terapii rezistentní deprese byla potvrzena mnoha studiemi.

Thyroidní hormony

Patří k nejstarším augmentačním metodám. Podrobný popis podávání thyroïdních hormonů je popsán dále. V posledních letech jsou thyroïdní hormony v léčbě afektivních poruch používané přece jenom méně než dříve. Důvodem by mohl být fakt, že studie byly provedeny jen se staršími antidepresivy (TCA), téměř žádné studie nezahrnují novější antidepresiva (SSRI).

Bupiron

Je parciálním agonistou 5-HT_{1A} receptorů. Bylo provedeno několik dvojité slepých studií, ve kterých byl bupiron přidán k SSRI. Léčebný efekt se jevil jako minimální. (Landen, 1998, Appelberg, 2001). Přesto je bupiron v zahraničí velmi populární, zřejmě pro svůj přídatný anxiolytický efekt.

Pindolol

Poměrně málo studovaný beta blokátor a antagonist postsynaptických 5-HT_{1A} autoreceptorů. Blokáda inhibičních autoreceptorů podporuje iniciální buněčný efekt SSRI. Jeho přidáním k SSRI, bylo popsáno mírné zlepšení a urychlení antidepresivní odpovědi (Bordet, 1998).

Modafinil

Preparát užívaný běžně k léčbě narkolepsie. Podporuje histaminergní neurotransmisí. Jeho užití u farmakorezistentní deprese je podpořeno dokonce několika dvojité slepými studiemi, které nenalezly statisticky významné zlepšení deprese, ale pouze některých komponent – např. únavnosti (De Battista, 2004).

Bupropion

Mechanismus jeho účinku spočívá v aktivaci dopaminergního a noradrenergního systému. Je aktivačním antidepresivem a zlepšuje sexuální funkce. Mezi nežádoucí účinky patří epileptogenní aktivita, tremor a tenze. Bupropion byl dosud podáván pacientům s TRD pouze v několika malých studiích, přesto jeho augmentace SSRI patří mezi nejoblíbenější léčebné strategie ve Spojených státech.

Atypická antipsychotika

Přidání antipsychotik má přímý efekt na snížení anxiety, insomnie a agitace, psychotických příznaků. Je možné, že potencují antidepressivní efekt zvýšeným uvolněním monoaminů v prefrontálním kortexu. (Zhang a spol., 2000).

U pacientů s TRD bylo zkoušeno přidání olanzapinu (Shelton a spol., 2001, Corya a spol., 2003), risperidonu (Rapaport a spol., 2003) a ziprasidonu (Dunner a spol., 2003 Papakostas a spol., 2003). Šlo o malé, převážně otevřené studie.

Pozn.

Olanzapin – patří do skupiny MARTA, blokátor D2, D1, D3, D4, S2, S3, S6, H1 receptorů

Risperidon – antagonist 5-HT₂ a D2 a alfa1 receptory, H1

Ziprasidone - antagonist 5-HT₂, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1D}, D2, D1, alfa 1, H1 a středně silný inhibitor reuptake noradrenalinu a méně serotoninu

Ostatní

Několik studií s pozitivním efektem zahrnovalo podávání nefazodonu, venlafaxinu a mirtazapinu. Zkoušen byl taktéž testosteron (Pope a spol., 2003), omega- 3 mastné kyseliny (Su, 2003; Murck, 2004) nebo kyselina listová.

NEFARMAKOLOGICKÁ LÉČBA

Elektrokonvulzivní terapie

Jejím cílem je vyvolat paroxysmus typu grand mal aplikací elektrické energie. Jednoznačný efekt ECT není objasněn, nicméně po konvulzi dochází k mnoha změnám. Objeví se zvýšení metabolismu v mozku, propustnosti hematoencefalické bariéry, má vliv na aktivitu mnoha mediátorových i neuroendokrinních systémů. ECT účinné u více než 60% pacientů s rezistencí na léčbu antidepressivem. Zejména u depresí s psychotickými rysy (Prudic, 1996).

Psychoterapie:

Neexistují žádné větší studie srovnávající účinnost samotné psychoterapie versus farmakologické léčby u pacientů s rezistentní depresí. Několik studií však

ukazuje efektivitu přidání psychoterapie (hlavně kognitivně behaviorální terapie) k medikaci antidepresivy (Keller,2000;Paykel,1999).

Repetitivní transkraniální magnetické stimulace (rTMS)

Používá se u nepsychotické rezistentní deprese. Jde o neinvazivní metodu, kdy je pacientovi na povrch hlavy přiložena magnetická cívka, která generuje pulsní magnetické pole. Dnes se používá především vysokofrekvenční rTMS. Tímto je stimulována nebo inhibována mozková kůra. Mechanismus účinku rTMS není zcela znám, dochází k regulaci počtu noradrenergických a serotonergických receptorů, ke zvýšení mozkového neurotrofního faktoru (BDNF), zmírnění stresové hormonální odpovědi.

Metaanalýza Martina a spol (2003) neprokázala zatím velký přínos rTMS v léčbě deprese , výsledky jsou zatím dílčí.

Stimulace nervu vagu

Operačně implantovaná elektroda stimuluje levostranný nervus vagus. V České republice se dosud nepoužívá, ale byla prokázána účinnost u farmakorezistentní deprese v několika studiích (Sackheim a spol., 2001)

3. ZMĚNY FUNKCE HYPOTALAMO-PITUITO-THYROIDÁLNÍ OSY V RÁMCI PORUCH NÁLADY

3.1. Obecný přehled odchylek funkce HPT osy u afektivních poruch

Poprvé byla zaznamenána spojitost štítné žlázy a mozku Parrym v roce 1786. Před více než sto lety bylo zjištěno, že hypothyroidismus i hyperthyroidismus mohou vyvolat změny nálady. U stavu spojeného s hypothyroidismem sledujeme zhoršení krátkodobé paměti a vůbec kognitivních funkcí, EEG změny, narušení průtoku krve mozkiem atd. Při hypertyroxinemií, popř. thyreotoxikóze se setkáváme s mániemi a agitovanými depresemi.

U pacientů s afektivními poruchami byly opakovaně různými studii potvrzeny odchylky funkce hypotalamo–pituito-thyroidální osy. Nejčastěji byla zmiňována změněná odpověď TSH na podání TRH v TSH stimulačním testu, přechodná hyperthyroxinémie v séru a oploštění diurnálního rytmu TSH. Mnohé další nálezy jsou uváděny pouze v několika pracích a ne vždy byly replikovány.

Změněná odpověď TSH na podání TRH

Pacienti s depresí vykazují v TSH stimulačním testu („TRH testu“) změněnou odpověď na podání TRH ve srovnání se zdravými kontrolami. TRH test je levný, bezpečný, nezářezový pro pacienta a rychle proveditelný. Hodnotí hladinu TSH před a po intravenózní aplikaci standardizované dávky TRH (200-500 µg). Test se provádí ráno a nalačno. Po podání TRH se hodnotí hladina TSH po dobu 3 hodin ve 30 minutových intervalech. Oslabení odpovědi je uváděno jako zvýšení hladiny TSH o méně než 5 mU/l (delta TSH, $\Delta TSH < 5$).

Hodnocení TSH stimulačního testu bylo provedeno v rámci výzkumu depresivních poruch mnohokrát. Většinou byla nalezena u depresivních osob odpověď snižená, ale několik studií demonstrovalo odpověď zvýšenou (Loosen a Prange, 1982).

Musíme nicméně vzít v úvahu, že v různých studiích byla určena různá kritéria positivity tohoto testu. Oslabení odpovědi bylo charakterizováno odpovědí menší než 5mU/l, ale také 2,5 mU/L nebo 7 mU/l. Roli při seriózním hodnocení výsledků hraje

také množství podaného TRH (v některých studiích 200 µg, jindy 400 µg) a denní doba provedení testu.

Nálezy nemohou být brány jako jednoznačné, protože k redukcí odpovědi může vést také vyšší věk, mužské pohlaví, akutní hladovění, chronické renální selhání, opakované podávání TRH, podávání somatostatinu, neurotensinu, dopaminu, thyroideálních hormonů či glukokortikoidů. Snížená odpověď navíc nebyla nalezena jen u depresí, existují práce prokazující redukcí odpovědi u alkoholiků a několik u pacientek s mentální anorexií.

Mohlo by se zdát, že snížení odpovědi v TSH stimulačním testu by mohlo být korelátém psychického distresu. Tuto hypotézu však popírá fakt, že se odchylka nevyskytuje například u schizofrenií (Loosen a spol., 1982; Sullivan a spol., 1997).

V současné době, z výše uvedených důvodů nízké specifity, není TRH test standardně používán v klinické praxi.

Pokud bychom se drželi hodnocení prací, ve kterých byl prováděn test na pacientech s depresí, pak přibližně 30% klinicky euthyroidních pacientů s depresivní poruchou vykazuje oslabenou odpověď TSH na podání TRH (Prange a spol., 1972; Kastin a spol., 1972). Snížená odpověď TSH na podání TRH může být vysvětlována down-regulací hypofyzárních receptorů pro TRH, ke které může dojít v důsledku hypersekrece TRH vedoucí ke zvýšené sekreci TSH, aktivaci thyroidei, zapojení zpětné vazby a následné hyposenzitivitě receptorů. Redukovaná odpověď může vzniknout také v důsledku elevace kortizolu a vzájemného ovlivnění HPA a HPT os, eventuálně dysregulací neurotransmiterů, které se podílejí na sekreci TSH (katecholaminy, neurotensin, somatostatin).

V některých studiích nalezená zvýšená odpověď by odpovídala subklinickému hypothyroidismu (Extein a spol., 1982; Gold a spol., 1981), často zmiňovanému ve spojitosti s přítomností rekurentní deprese. (Sullivan a spol., 1997)

U pacientů s bipolární poruchou musíme vzít v úvahu také lithiem indukovaný hypothyroidismus. Lithium dlouhodobě snižuje hypotalamickou neurosekreci a nižším výdejem endogenní sekrece TRH lze také částečně vysvětlit vyšší hypofyzární citlivost vůči tomuto působku (Höschl, 1981).

Hypertyroxinémie v séru

Přibližně 25% (dle různých studií 0,4 – 33%) depresivních pacientů vykazuje zvýšené sérové hladiny T4 a to jak formy volné, tak formy vázané na vazebný protein (Styra a spol., 1991; Sullivan a spol., 1997). Některé studie dokonce našly korelaci mezi závažností deprese a sérovou hladinou T4 (Kirkegaard a spol., 1998). Poměrně malá práce věnující se dennímu obratu T4 prokázala u depresivních pacientů jeho zvýšení přibližně o 30%.

Existuje několik hypotéz vysvětlujících nález sérové hypertyroxinémie. Jedna z nich vychází z celkového narušení zpětné vazby hipokampus-hypotalamus, kdy dochází k hyperaktivaci HPA osy a k hyperkortikalizmu, který následně vede k aktivaci HPT osy a hypersekreci TRH a thyroidních hormonů. Bruhn (2000) potvrdil na krysích hypotalamických kulturách, že expozice glukokortikoidům vede ke zvýšené genové expresi TRH.

Opačná hypotéza Bauera a Whybrowa mluví naopak o centrálním deficitu thyroidních hormonů, který je regulován kompenzatorně zvýšenou hladinou T4 v periférii.

Oploštění diurnálního rytmu

Normální diurnální rytmus vykazuje vrchol výdeje TSH v časných ranních hodinách. U pacientů s afektivními poruchami bylo zjištěno oploštění křivky diurnálního rytmu (Bartalena a spol., 1990).

Ostatní nálezy

U osob s depresí byly pozorovány snížené hladiny transthyretinu v mozkomíšním moku. Transthyretin je produkován choroidním plexem a secernován do mozkomíšního moku. Hraje roli v transportu a distribuci thyroidních hormonů v CNS; přesněji řečeno je to specifický T4 transportní protein, který je zodpovědný za vychytávání T4 přes hematoencefalickou bariéru a jeho distribuci v mozku. Snížené hladiny transthyretinu by odpovídaly hypothyroidismu v mozku (Sullivan a spol., 1999).

Dále některé studie uváděly zvýšení hladin TRH v mozkomíšním moku (Banki a spol., 1988). Zvýšené hladiny TRH zřejmě souvisejí se zvýšenou stimulací hypotalamických TRH neuronů.

Opakovaně byla v různých pracech zmiňována přítomnost imunitních změn u depresivních pacientů. Jde například o nález zvýšené hladiny protilátek proti thyroideální peroxidáze u žen s depresí nebo nárůst hladin imunoglobulinů zabraňujících navázání TSH na receptor. Přítomnost těchto protilátek je běžným jevem u autoimunitních chorob thyroidei. Dispozice v podobě zmíněných protilátek a současná expozice stresu by mohla vést k depresi nebo k rozvoji autoimunitního onemocnění. Podporovalo by to také hypotézu, že na pozadí depresivní poruchy je autoimunitní proces a že je zřejmá provázanost neuroendokrinních a imunitních změn.

Plazmatická hladina TSH je převážně uváděna v normálním rozmezí, jen Kirkegaard a spol. (1990), pozoroval vyšší plazmatické hladiny.

Sérové hladiny T3 byly většinou nalezeny v normálním rozmezí, dvě práce popisovaly plazmatické hladiny snížené (Kirkegaard a spol., 1981 a Baumgarten a spol., 1988). Hladina T3 může být však ovlivněna řadou dalších, převážně nutričních faktorů nebo komorbidních onemocnění.

Všechny uvedené parametry se zdají být state markerem, ve většině studií došlo se zlepšením deprese k úplné či částečné normalizaci.

3.2 Hypotézy propojení deprese a HPT osy

Existuje několik hypotéz, které by mohly vést k objasnění změny funkce HPT osy u afektivních poruch. Jedná se zřejmě o multifaktoriální záležitost.

Hypotéza 1 – Deficit serotoninu v mozku:

Serotonin hraje svou roli nejen v etiologii deprese, ale také poruch štítné žlázy. U krys jsou syntéza a obrat serotoninu sníženy u hypothyroidismu a zvýšeny u hyperthyroidismu (Attervill a spol., 1981). U osob s neléčenou hypotyreózou je přítomna snížená odpověď v d-fenfluraminovém testu, což odpovídá snížené centrální funkci serotoninu (Cleare a spol., 1996).

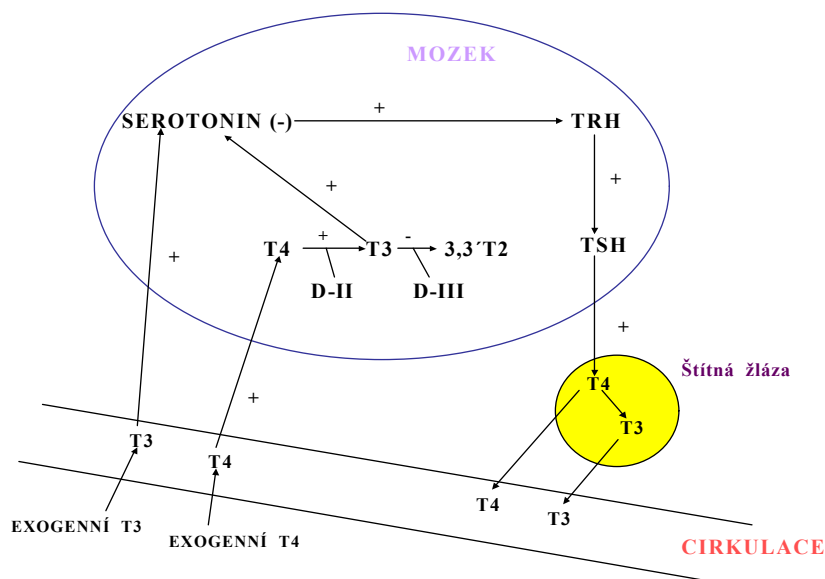
TRH je pod inhibiční kontrolou serotoninu. Redukované koncentrace serotoninu vedou ke zvýšené koncentraci TRH, v důsledku toho dochází ke stimulaci TSH a následně ke zvýšení thyroideální produkce T4 a T3. Potom je zapojena zpětná vazba.

Metabolismus thyroideálních hormonů v mozku je relativně nezávislý od periferie, probíhá tam lokální deiodinace pomocí deiodinázy typu 2 (D2). Cerebrální T3 vzniká především deiodinací T4. Narušená aktivita 5'D2 může být zodpovědná za snížení hladin T3 a následně serotoninu v mozkové tkáni (Kirkegaard, 1998). Poruše deiodinázy typu 2 by odpovídala také v některých studiích uváděná zvýšená hladina rT3 (Kirkegaard, 1981). V situaci nedostatečné funkčnosti D2 přebírá její funkci deiodináza typu 3, která přemění T4 na rT3. Na centrální úrovni by tomuto jevu odpovídaly taktéž zvýšené hodnoty rT3 v mozkomíšním moku (Linnoila a spol., 1983).

Pokud krysám dodáme T3, povede to ke zvýšení hladiny serotoninu v cerebrálním kortexu. Lithium, desipramin i fluoxetin ve studiích na krysách zvyšují aktivitu D2 deiodinázy a snižují aktivitu D3 deiodinázy (Baumgarten a spol., 1994; Campos-Barros, 1994).

Později bylo detailněji specifikováno, že aplikace thyroideálních hormonů ovlivňuje serotoninergní neurotransmisi jednak desenzitizací 5-HT_{1A} inhibičních receptorů a zároveň senzitivací 5-HT₂ receptorů v kortexu, což vede k následnému zvýšení uvolnění serotoninu (Gur a spol., 1999; Heal a Smith, 1988).

Vaidya ve své studii z roku 2001 mluví navíc o synergistickém vlivu 5-HT_{1A} receptorů a T3 na produkci neurotrofního BDNF.



Obr. 3. Snížené hladiny serotoninu aktivují HPT osu (+) a zvýšením hladiny T3 (endogenními i exogenními zdroji) dochází ke zvýšení hladiny serotoninu (zpětná vazba). Upraveno dle C.Kirkegaard a J. Fabera.

Hypotéza 2 – Lokální hypothyroidismus v mozku (centrální hypothyroidismus)

Hypotéza čerpá z klinické podobnosti hypothyroidismu a deprese. Studie na hypothyroidních krysách ukazují snížení centrální serotonergní syntézy a obratu i snížení receptorové senzitivity ve srovnání s krysami euthyroidními. Neléčené hypothyroidní osoby mají vyšší kortizol a nižší odpověď v d-fenfluraminovém testu oproti kontrolám, což opět koresponduje se snížením 5-HT aktivity (Claare a spol., 1996).

Hypothyroidismus lze tedy pravděpodobně brát jako nespecifický stresor v precipitující depresi. U pacientů s depresí mluvíme především o hypothyroidismu subklinickém (3. stupně, viz tab 12).

Dle studie Howlanda z roku 1993 se subklinický hypothyroidismus vyskytuje u 8-17% depresivních pacientů, ve srovnání s 5% v běžné populaci. Pacienti s depresí a hypothyroidismem špatně odpovídají na antidepressivní léčbu. Špatná odpověď na léčbu byla potvrzena opakovaně také na experimentálních modelech deprese. Když se hypothyroidní krysy vystavily experimentálním depresivním podnětům, hůř reagovaly na podání TCA.

Hyperaktivita HPT osy může být kompensatorním mechanismem probíhajícího centrálního hypothyroidismu.

Hypotéza 3 – Ovlivění funkce beta adrenergických receptorů

Vychází z teorie relativního nedostatku katecholaminů, hlavně noradrenalinu v mozku při depresi. Trijodthyronin by mohl hrát roli neuromodulátoru v noradrenergním systému v CNS (Altshuler a spol., 2001). T3 také způsobuje nárůst senzitivity beta-adrenergických postsynaptických receptorů, čímž zvyšuje jejich funkci. Hypotéza se opírá o studie, kdy po přidání T3 docházelo ke zlepšení účinku TCA /viz dále/.

Hypotéza 4 – Vzájemné ovlivnění HPA a HPT osy v rámci jejich dysregulace u afektivních poruch

U afektivních poruch byla opakovaně popisována zvýšená aktivace hypotalamo-pituito-adrenální osy.

Na hypotalamu in vitro (v kultuře), což odpovídá deafferentovanému hypotalamu in vivo, je prokázán paradoxní vzrůst TRH produkce po glukokortikoidní stimulaci. Je známo, že při depresi u lidí dochází k funkčnímu rozpojení hypotalamu se zhoršením glukokortikoidní zpětné vazby z hipokampu do hypotalamu, což vede ke zvýšeným hladinám kortisolu a narušené dexametasonové supresi. Je možné, že zvýšené T4 v plazmě depresivních osob a také snížená odpověď v TRH testu odráží glukokortikoidní aktivaci TRH neuronu, což vede ke zvýšené TRH sekreci a down-regulaci TRH receptoru (Jackson, 1998).

Bylo zjištěno, že pacienti s afektivními poruchami, kteří mají sníženou ACTH odpověď na CRH mají vyšší pravděpodobnost časného depresivního relapsu.

Z daných skutečností je možné vyvozovat, že obě osy podléhají nějaké společné centrální kontrole. Thyroidní hormony podporují up-regulaci CRH mRNA a down-regulaci TRH mRNA, což následně vede k TSH supresi a zvýšení ACTH (Ono a spol., 1984).

HYPOTHYREÓZA	
1. stupeň:	klinické symptomy ++ plazmatické hladiny T3 a T4 snižené, TSH zvýšené delta max TSH zvýšené
2. stupeň:	klinické symptomy + plazmatické hladiny T3 a T4 normální, TSH zvýšené delta max TSH zvýšené
3. stupeň:	klinické symptomy - plazmatické hladiny T3 a T4 normální, TSH v normě delta max TSH zvýšené

Tab. 12 Stupně členění hypothyreózy

SOUHRN ZMĚN ODRAŽEJÍCÍCH NARUŠENÍ HPT OSY U DEPRESE			
T4	sérová hladina zvýšena	mozkomíšní mok zvýšeno	denní obrat zvýšeno
T3	nezměněna snížena	nezměněno sníženo	nezměněno
rT3	zvýšena nezměněna	zvýšeno nezměněno	nezměněno
TSH	sníženo u TRD, RCBP		
Delta TSH	zvýšeno Sníženo		
TRH	-----	-----	zvýšeno nezměněno
Somatostatin	-----	-----	sníženo

Tab. 13 Souhrnné změny týkající se hladin thyroidních hormonů, které odrážejí dysfunkci HPT osy.
Upraveno dle Kirkegaard, 1988

Preparáty hormonů štítné žlázy dostupné v České Republice		
Triiodtyronin - T3		
Tertroxin tbl	Glaxo	20 ug/ tbl
Thyroxin - T4		
Euthyrox tbl.	Merck	50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 ug/ tbl.
Letrox tbl.	Berlin Chemie	25, 50, 100, 150 ug/ tbl.
Eltroxin tbl.	Glaxo	100 ug/ tbl. 100 ug/ tbl.
L - thyroxin tbl.	Henning	50, 100, 150 g/ tbl.

Tab 14 Preparáty hormonů štítné žlázy dostupné v ČR

4. Podávání thyroïdních hormonů v rámci léčby afektivních poruch

4.1. Podávání thyreoliberinu -TRH

V 70. letech 20. století bylo provedeno množství studií, kdy se po podání TRH objevilo zlepšení nálady. Například práce Kastina nebo Prangeho z roku 1972 prokázaly, že podání 500 µg TRH intravenózně vyvolá za několik hodin zřejmý antidepressivní efekt, který přetrvává několik dní. Pozdější kontrolované dvojité slepé studie s podáním až 1000 µg i.v. bohužel podobný efekt neprokázaly (Stein a Avni, 1988; Sattin 1988). Studie Marangella a spol. z roku 1997 nastínila slibný antidepressivní efekt podání TRH intratekální infúzí.

4.2. Podávání tyreotropinu -TSH

Prange se pokusil ve své placebem kontrolované studii (1970) přidat intramuskulárně TSH k TCA. Došlo k signifikantnímu zlepšení ve srovnání s kontrolami. Bohužel tato studie nebyla replikována.

4.3. Podávání trijodthyroninu -T3

Samostatná medikace trijodthyroninem

Podání T3 bez přídatné antidepressivní medikace bylo zkoušeno opakovaně. V dávce kolem 50 µg/d vykazoval T3 podobný antidepressivní účinek jako imipramin, při vyšší dávce se objevily nežádoucí účinky. Analýza studií bohužel neprokázala jednoznačně antidepressivní efekt T3, někteří pacienti se zlepšili minimálně, někteří značně a jiní vůbec (Wilson a spol., 1974; Flash 1958; Feldmesser-Reiss, 1958).

Potenciace antidepressiv trijodthyroninem

V raných 60. letech se začalo přidávat T3 s cílem potenciace léčby tricyklickými antidepressivy.

Trijodthyronin se podal na počátku terapie zároveň s antidepressivem za účelem urychlení nastoupení efektu antidepressivní terapie.

Pokud byla pouze částečná nebo nedostatečná odpověď na léčbu tricyklickými antidepresivy, zkoušel se přidávat T3 jako augmentační prvek k TCA.

Akcelerace léčby pomocí T3

Bylo provedeno několik kontrolovaných studií /viz tab 15/, většina z nich prokázala signifikantní urychlení léčby vlivem přidání T3 k TCA. Efekt nastoupil během 2-3 týdnů. Lépe vyzněly otevřené studie, v dvojité slepých studiích nebyl výsledek tak zřetelný. Bohužel nebyla provedena žádná studie akcelerace léčby T3 jeho přidáním k SSRI nebo jinému novějšímu antidepresivu.

Z nejrecentnější metaanalýzy Aronsona (1996) plyne, že T3 bylo v rámci studií podáno téměř 300 non-respondentům k TCA a celkově bylo 2x účinnější ve srovnání s placebem. Nicméně správně provedených kontrolovaných dvojité slepých studií stále není tolik, aby bylo možné vynést jednoznačný verdikt. Zatím z provedných prací vyplývá, že na výsledném efektu se nepodílí pohlaví, věk, ani druh deprese. V posledních letech se T3 k akceleraci léčby téměř neužívá.

Augmentace léčby přidáním T3

L-trijodthyronin byl opakovaně přidán v dávce 20-50ug/d k tricyklickým antidepresivům a potencoval jejich efekt (tab 16). Účinek se vysvětloval několika způsoby: 1) tím, že thyroïdní hormony zvyšují senzitivitu beta adrenergních receptorů v mozku a posilují účinek TCA na beta adrenergní receptory u euthyroidních pacientů nebo 2) že thyroïdní hormony potencují účinek TCA jen u pacientů s určitým stupněm subklinické hypothyreozy. 3) Joffe a Singer (1992) uvádějí možnost vlivu relativního hyperthyroidního stavu u depresí. Tento stav by mohl mít paradoxní efekt na neuronální úrovni. Neurony, jak již bylo uvedeno, totiž dostávají T3 převážně na základě lokálních dejodinačních mechanismů, které jsou odlišné od periferní dejodinace. Centrální dejodinace může být inhibována relativním zvýšením periferního T4, které zvyšuje neuronální T3. Potom by, dle této hypotézy, podávání T3 inhibovalo thyroïdální produkci T4 a zvyšovalo by lokální dejodinaci.

T3 dělá supresi sekrece TSH a sekundárně produkce endogenního T4 a T3 na stupeň, který je dostatečný k udržení thyroïdního stavu. Pokud se podává T3 společně s antidepresivy pacientům euthyroidním, dochází k částečné supresi TSH a

T4 bez statisticky významného vzrůstu T3 /Joffe a Singer 1990,1992/. Když se krysám po dobu 10 týdnů podával T3, zjistilo se, že zůstaly euthyroidní. Je tedy možné vyvozovat, že probíhá regulace jak na úrovni suprese TSH, tak na úrovni periferního metabolismu. Dá se říct, že T4 je velký supresant TSH, ale má relativně malý metabolický potenciál. Z toho plyne, že poměr TSH / metabolická aktivita je pro T4 větší než pro T3. Kdyby se tedy podával T3, tak by to spíš mohlo ovlivnit periferní metabolickou aktivitu a vyvolat hyperthyroidismus. Ve výše uvedené studii však zůstaly křesy euthyroidní, takže asi existují další regulační mechanismy. Může jít například různý celulární uptake, regulovaný přeměnou T4 v T3 pomocí 5' monodeiodinasy nebo změnami aktivity thyroïdních receptorů.

Když se podávalo krysám T3 společně s fluoxetinem, tak došlo k desenzitizaci 5-HT_{1B} receptorů v hypotalamu (Lifschytz a spol., 2004).

V posledních letech proběhlo pár otevřených studií týkajících se augmentace T3 u SSRI- non respondérů. Práce vykazovaly poměrně slibný efekt. Agid (2003) našel zlepšení hlavně u žen, Ionofescu (2005) u atypických depresí.

4.4. Podávání thyroxinu -T4

Samostatné podávání zkoušeli Okuno a Nakayasu v roce 1988, výsledky nebyly příliš konsistentní, u některých pacientů ale bylo přítomno značné zlepšení. Pro akceleraci léčby se T4 nejeví jako vhodný vzhledem k jeho příliš dlouhému poločasů /4-8 dní/ a také proto, že funguje jako prohormon pro T3.

T4 se začalo v roce 1982 především podávat jako profylaktikum u rekurentních poruch nálady a u rychle cyklující bipolární poruchy /"rapid cycling"/. Asi 13% pacientů s bipolární poruchou má znaky rychlého cyklování (tj. 4 a více epizod za rok) a jsou většinou refrakterní na léčbu. V léčbě se začíná s nízkou dávkou, která se postupně zvyšuje do suprafyziologických hladin. Ukázalo se totiž, že podávání fyziologických dávek thyroxinu je v terapii afektivních poruch neúčinné (Joffe a spol., 1990). Thyroxin funguje jen ve spojení s antidepresivem nebo profylaktikem. Je možné, že některá antidepresiva potřebují T4 k naplnění své specifické akce. Pacienti, kteří nepodpovídají na léčbu T3 mohou být subklinicky funkčně hyperthyroidní a odpovídají na T4 a naopak (Rudas a spol., 1999).

4.5. Nežádoucí účinky provázející léčbu thyroïdními hormony

Opakovaně bylo mnohými studiemi potvrzeno, že během podávání thyroïdních hormonů u afektivních poruch nedochází k negativnímu ovlivnění kardiovaskulárního systému (EKG a TK). Při léčbě thyroïdními hormony je však přece jen vhodná přítomnost jisté obezřetelnosti u pacientů s onemocněním srdce, protože T3 může senzibilizovat k arytmogenní aktivitě. Dosud nebyly provedeny validní studie, které by zkoumaly podávání T4 s ohledem na funkci komor, srdeční výdej, atd. Zatím nicméně nebylo obecně řečeno, že by byl nežádoucně kardiovaskulární systém thyroxinem ovlivněn.

Léčba thyroïdními hormony neměla vliv ani na tělesnou hmotnost a nedošlo k významným změnám kostní density (Franklyn a spol., 1992; Faber a Galloe, 1994; Gyulai a spol., 1997). Doporučuje se nicméně měřit v průběhu léčby kostní denzitu pravidelně, zejména u postmenopauzálních žen (Gyulai a spol., 2001).

Z nežádoucích účinků se u pacientů s afektivními poruchami během léčby thyroïdními hormony ojediněle objevovala úzkost, insomnie, zvýšená potivost, vnitřní neklid a třes. Co se týká suprafyziologických dávek T4, Bauer ve své studii z roku 2002 srovnal 13 zdravých kontrol se 13 pacienty s TRD. Oběma skupinám podával suprafyziologické dávky T4. Signifikantně lépe tolerovali léčbu pacienti s afektivními poruchami; zatímco ve skupině depresivních nepřerušil nikdo léčbu pro nežádoucí účinky, tak ve skupině zdravých ji přerušilo 38%.

AKCELERACE AD léčby TRIJODTHYRONINEM (I- T3) – přehled studií					
1969	Prange et al.	20 UP	imipramin (150 mg/d) + 5. den I-T3 (25 µg/d) x PCB	28 dní	zlepšení všichni,co dostávali I-T3 úplná remise nebyla ve 3 případech dosažena akcelerace léčby
1970	Wilson et al	20 UP	imipramin (150 mg/d) + 5. den I-T3 (25 µg/d) x PCB	28 dní	akcelerace léčby
1972	Coopen et al	15 UP, BP	imipramin (150mg/d) + 1.den I-T3 (25 µg/d)	28 dní	akcelerace léčby
1972	Feighner et al	21 Deprese	imipramin (200mg/den) + 1.den I-T3 (25 µg/d)	22 dní	bez sign. význ. efektu
1972	Wheatley et al	30 neuro- tická deprese	amitriptylin (100 mg/d) + 1.den I-T3 (20 µg/d)	21 dní	akcelerace léčby

1974 Wilson et al	19 UP	imipramin (150mg/d) + 1.den I-T3 (25 µg/d) zvýšeno na 62,5 ug/d)	28 dní	akcelerace léčby
1978 Steiner et al	8 UP,BP	imipramine (150mg/d) + 1.den I-T3 (25 µg/d)	35 dní	bez sign. význ. efektu
2004 Appelhof et al	106UP	paroxetine (30mg) + I-T3 1xd 25 µg/d + I-T3 2xd 25 µg/d + PCB	RA, DS 8 týdnů	bez efektu x PCB vyšší NÚ při I-T3

UP – unipolární deprese, BP – bipolární deprese, PCB – placebo, RA – randomizovaná, DS – dvojitě slepá, NÚ – nežádoucí účinky.

Tab. 15 Akcelerace antidepressivní léčby trijodthyroninem – přehled studií
Doplněno a upraveno dle Bauer a Whybrow, 2001

AUGMENTACE TRIJODTHYRONINEM (I-T3) - přehled studií				
1970 Earle et al	25 UP,BP	imipramin (150mg/d) + I-T3 (25 µg/d)	otevřená	14 responderů
1974 Ogura et al	44 UP,BP	TCA + I-T3 (15-30 µg/d)	otevřená	29 responderů
1975 Hatotani et al		TCA + I-T3	otevřená	50% respondeři
1975 Yamaguchi	6	TCA+TH	otevřená	+
1975 Banki et al	52 žen UP,BP	TCA + I-T3 20-40 µg/d	10 dní otevřená	39 responderů
1977 Banki et al	49 žen UP,BP	Amitriptylin do 200mg/d + I-T3 20-40 µg/d	14 dní kontroly	26 responderů
1978 Steiner et al	8 žen UP,BP	Imipramin 150 mg/d + I-T3 (25 µg/d) x PCB	35 dní DS	všechny s I-T3 zlepšení
1979 Tsutsui et al	11 mužů	TCA + I-T3 (5-25 µg/d)	otevřená	10 responderů
1982 Extein et al	1muž UP 1 žena UP	TCA + I-T3 (25 µg/d)	otevřená	oba respondeři
1982 Goodwin et al	6F, 6M UP, BP	Imipramin, desipramin do 300 mg/d + I-T3 od 21. dne 20-50 µg/d	4 týdny DS	8 respondérů
1984 Targum et al	7M,14F UP	TCA + 3 týdny I-T3 (25 µg/d) x I-T4 (100 µg/d)	4 týdny otevřená	7 respondeři
1984 Schwarcz et al	8 UP	desipramin do 300 mg/d + I-T3 (25-50 µg/d)	otevřená	4 respondeři
1987 Gitlin et al	7M, 9F UP	Imipramin do 300 mg/d + 21 dní I-T3 (25 µg/d) x PCB	4 týdny DS	zlepšení všichni PCB i I-T3
1989 Thase et al	29M,11F UP	Imipramine 28 dní + I-T3 (25 µg/d)	4 týdny otevřená	5 zlepšení
1990 Joffe a Singer	24M,14F UP	Imipramin, desipramin 21 dní + I-T3 (37,5 ug/d) x I-T4 (150 µg/d)	4 týdny DS	T3; 9 ze 17 zlepšení T3 lepší T4
1993 Joffe et al	51 UP	Imipramin, desipramin + 1/3 Li (953,3 mg/d) + 1/3 I-T3 (37,5 µg/d) + 1/3 PCB	5 týdnů DS	Respondéři Li 9/17 I-T3 10/17 PCB 3/16
1997 Birkenhaeger	14 UP	TCA + I-T3 (37,5 µg/d)	4 týdny otevřená	Respondéři 2

2003	Agid et al	16 F, UP 9 M, UP	SSRI + I-T3 (25-50 µg/d)	otevřená	10/16 F respondéři 9 M non-respondéři
2005	losifescu	20 UP	SSRI + I-T3 (50 µg/d)	4 týdny otevřená	7R, 5ČR, 8NR

Li – lithium, PCB – placebo, TCA – tricyklická antidepresiva, UP- unipolární deprese, BP- bipolární deprese,

M - muži, F - ženy, DS – dvojitě slepá, SSRI – selektivní inhibitory vychytávání serotoninu.

Tab. 16 Augmentace antidepresivní léčby trijodthyroninem – přehled studií.

AUGMENTACE THYROXINEM (I-T4) – přehled studií					
1986	Bauer, Whybrow	1M, RCBP			remise
1990	Bauer, Whybrow	11 RC BP			
1990	Joffe a Singer	38 UP	desipramin, imipramin + I-T3 (37,5 µg/d) nebo + I-T4 (150 µg/d)	RA DS 3 tý	T4 4/21 R T3 9/17R
1998	Bauer et al.	17 TRD 13 BP,4 UP	předchozí AD léčba +I-T4 až do prům. dávky 482 µg/d	12 tý otevřená	10 úplná remise
1998	Spoov, Lahdelma	21UP, 1BP	předchozí AD léčba + I-T4 200 µg/d nebo Li	4 tý RA, DS	T4 lepší než Li
1999	Rudas et al.	7F, 2M TRD (UP, BP, dysthymie)	AD léčba +I-T4 100-300 µg/d	8 tý otevřená	5 R, 1ČR
2002	Bauer et al	13 TRD			
mez. studie	IGSLI	70 TR BP, RCBP	předchozí AD léčba + I-T4 až 500 µg/d	18 týdnů	

UP – unipolární deprese, AD – antidepresiva, tý – týdny, TRD –deprese rezistentní na léčbu, RC – „rapid cycling“, BP – bipolární porucha, R – respondér, ČR – částečná odpověď na léčbu, DS – dvojitě slepá, RA – randomizovaná.

Tab. 17 Augmentace antidepresivní léčby thyroxinem – přehled studií.

Doplněno a upraveno dle Joffe a Whybrow, 2001

PROFYLAXE THYROXINEM (I-T4) – přehled studií					
1982	Stancer et al	8F, 2M RC BP RC BP	předchozí AD léčba +I-T4 až 400 µg/d	9m – 9let otevřená	5R, 2 ČR,1 NR
1986	Bauer, Whybrow	1M, RCBP			remise
1990	Bauer, Whybrow	11 RC BP	stabilizátor nálady (8Li) + L-T4 150-400 µg/d	18tý – 37m otevřená	9R, 1ČR, 1NR
1994	Baumgarten	6 TR ne RC BP	předchozí AD léčba + I-T4 250-500 µg/d		
1997	Bauer et al	20 UP, BP RP	různá antidepresiva stabilizátory nálady + I-T4 200-600 µg/d	27-104m	signifikační redukce epizod snížení indexu morbidity
1997	Affleou et al	6 RCBP	různá psychofarmaka + I-T4 50-325 µg/d	5tý – 3r kazuistiky	2R, 2ČR, 2NR

F – ženy, M- muži, AD – antidepresiva, tý – týdny, m – měsíce, TR – rezistentní na léčbu, RC – „rapid cycling“, BP – bipolární porucha, R – respondér, ČR – částečná odpověď na léčbu, NR - neodpověď na léčbu, RP – neúčinnost profylaxe.

Tab. 18 Udržovací léčba I-T4 – přehled studií.

Doplněno a upraveno dle Joffe a Whybrow, 2001

5. Vychytávání L-trijodthyroninu (L-T3) erythrocyty

5.1 Základní poznatky o uptake L-T3 do erythrocytů

Erythrocyty nemají jádro a tudíž nejsou cílovými buňkami pro thyroïdní hormony, mohou však hrát roli v jejich krevním transportu. Vstup trijodthyroninu (T3) do erythrocytů může být považován za kompenzatorní mechanismus, který vyrovnává změny v dostupnosti thyroïdních hormonů pro cílové buňky. Je možné, že změny v transportu T3 jsou odrazem poruch na systémové úrovni. Moreau a spol. v roce 1999 pozorovali u krys změny kinetických parametrů vychytávání L-T3 v závislosti na změnách plasmatických hladin thyroïdních hormonů, tj. rychlost transportu byla zvýšena u hypothyroïdních krys a snížena u hyperthyroïdních.

U depresivních pacientů, u kterých předpokládáme určité odchylky hypotalamo-pituito-thyroïdní osy, by se dala nalézt souvislost mezi depresivním onemocněním a změnou parametrů vychytávání thyroïdních hormonů v erythrocytech.

In vitro uptake thyroïdních hormonů erythrocyty byl popsán Crispellem a spol. už v roce 1956, kdy byla pozorována větší afinita krvinek k L-T3 než k T4.

Podle nejnovějších poznatků prostupuje T4 v lidských erythrocytech převážně volnou difúzí (Galton a spol., 1986). L-T3 naproti tomu vstupuje do erythrocytu usnadněnou difúzí, naváže se zde na cytosolové proteiny a membránové proteiny nebo lipidy, je zde akumulován, ale ne metabolizován (Samson, 1992). Červené krvinky pravděpodobně slouží jako cirkulující zásobník trijodthyroninu. (Osty a spol., 1988; 1990). Trijodthyronin asociovaný s erythrocyty tvoří přibližně 25% z jeho celkového množství v plazmě.

Zmiňovaná usnadněná difúze T3 je uskutečňována pomocí stereospecifického satureovatelného přenašečového systému nazávislého na Na⁺. Zřejmě jde o transportní systém, který je shodný nebo podobný tzv. systému T pro aromatické aminokyseliny L-tryptofan, L-fenylalanin a L-tyrosin. T systém byl poprvé popsán jako specifický pro L-tryptofan v roce 1980. (Rosenberg a spol., 1980; 1981). K akumulaci L-T3 uvnitř erythrocytů dochází zřejmě v důsledku jeho nitrobuněčného vychytávání.

Výzkumy zabývající se tematikou transportu jednotlivých substrátů do buněk sledují zejména dvě nejlépe charakterizující veličiny, a to V_{max} , což je maximální rychlost transportu do buňky odrážející existenci satureovatelného množství

přenašečů, a K_m , což je zdánlivá Michaelisova konstanta, definovaná jako hodnota koncentrace transportované látky, při níž dosahuje rychlost transportu do buňky poloviny V_{max} . Hodnoty K_m jsou blízké hodnotám disociačních konstant komplexů přenašeč-substrát a K_m je tedy také měřítkem afinity přenašeče k substrátu.

Transportní systém T a jeho úloha v transportu thyroïdních hormonů byl sledován mnohými studiemi, prováděnými převážně na krysích erythrocytech. Bylo totiž zjištěno, že rychlost vychytávání L-T3 krysími erythrocyty je asi 500krát vyšší než je tomu v lidských erythrocytech, což se dá vysvětlit menším obsahem membránových T3 přenašečů v lidských erythrocytech (Zhou a spol., 1990; Samson a spol., 1992). K_m je za stejných experimentálních podmínek asi 2krát nižší u lidských erythrocytů oproti krysím (Osty a spol., 1988). Kinetika transportního systému T se musí zkoumat za přítomnosti leucinu, který zablokuje systém pro neutrální aminokyseliny (tj. tzv. L-transportní systém).

Transportní systém pro T3 je teplotně a pH závislý. V_{max} se mění s teplotou (uptake se rychle zvyšuje do 15°C, pak se zvyšuje jen málo), K_m se se změnou teploty nemění. Nejvyšší uptake je při pH 7, při vyšším pH se rychlost vychytávání snižuje. K_m je věkově nezávislé, byly však pozorovány rozdílné hodnoty V_{max} vzhledem k věku – u novorozenců je zvýšená V_{max} v porovnání s erythrocyty dospělých. (Osty a spol., 1988).

Tento transportní systém je inhibovatelný SH-reagenty, byla zjištěna inhibice oligomycinem, KCN, actinomycinem (Krenning a spol., 1978; 1981, Holm a spol. 1980; Docter a spol., 1987).

Byla snaha určit transportní protein odpovědný za transport thyroïdních hormonů v erythrocytech a dalších buňkách. V roce 1982 byl zjištěn na krysích GH3 buňkách 55kD vazebný protein pro N-bromoacetyl-T3 (Horiuchi a spol., 1982), který byl později identifikován jako protein disulfidisomerasa, což je běžně známý enzym na vnitřní straně endoplazmatického retikula (Obata a spol., 1988). Dozinem a spol. byl v roce 1985 popsán satureovatelný vazebný protein pro T4 o 44kD na plazmatických membránách krysích hepatocytů. Na plazmatických membránách krysích erythrocytů byly značením N-bromoacetyl-T3 zjištěny dva polypeptidy 50kD a 64kD, jejichž význam v transportu thyroïdních hormonů je prozatím nejistý (Angel a spol., 1990).

Za hlavní transportní protein pro T3 je považován 52kD pozorovaný na krysích erythrocytárních membránách (Samson a spol., 1996).

Na vysokou afinitu L-T3 k transportnímu systému má určitý vliv i fosfolipidové uspořádání membrán, resp. je důležitá interakce T3 s fosfolipidy v membráně (Hillier a spol., 1970, Samson a spol., 1996).

Jak už bylo zmíněno, transportní systém T je společný i pro prekurzor serotoninu tryptofan. Je nutné předeslat také fakt, že tryptofan je při nízkých koncentracích transportován ze 20% také transportním systémem L. Vychytávání tryptofanu podléhá trans inhibici za přítomnosti značeného T3 a naopak. Dá se říct, že L-T3 a L-tryptofan na sebe působí při vstupu do krvinky vzájemně kompetitivní inhibicí. Systém T dokáže vyměňovat intracelulární tryptofan za extracelulární T3. Afinita transportnímu systému pro T3 je daleko vyšší než pro tryptofan, ale rychlost vychytávání V_{max} je mnohem nižší pro T3 než pro tryptofan (Zhou a spol., 1990). Normální plazmatické hladiny tryptofanu, tyrozinu a fenylalaninu jsou relativně nízké (asi 0,1 mM), takže by neměly mít vliv na rychlost vychytávání T3 v krysích erythrocytech. Výjimkou je zvýšená hladina fenylalaninu u dětí s fenylketonurií, kdy by mohla vysoká hladina cirkulujícího fenylalaninu (asi 20mM) ovlivnit míru T3 influxu v lidských erythrocytech (Zhou a spol., 1990).

Transport T3 je inhibován také thyroxinem, který však není transportován přes plazmatickou membránu, zatímco v jiných buňkách (hepatocyty, astrocyty) se zdá, že T3 i T4 sdílejí stejný transportní systém.

Určitá interakce transportního systému thyroïdních hormonů s transportním systémem s velkou afinitou k aromatickým aminokyselinám ovšem existuje také např. v krysích astrocytech nebo v buňkách choriokarcinomové linie, které nemají transportní systém T. Bude předmětem dalších výzkumů identifikovat podrobněji transportní proteiny, aby bylo možné zjistit, jestli fungují v různých buňkách různé přenašeče nebo jestli nějaké buněčné specifické membránové faktory modulují transportní systém běžného přenašeče.

5.2 Změny vychytávání L-T3 u depresivních pacientů

Doposud byly provedeny pouze dvě publikované studie zabývající se erythrocytárním uptake L-T3 u pacientů s afektivními poruchami. Jde o studii Moreau a spol. z roku 1998, kdy byly sledovány parametry vychytávání L-T3 a L-tryptofanu (tj. V_{max} a K_m) u 34 v době studie neléčených klinicky euthyroidních pacientů s unipolární depresí a u 40 zdravých kontrol. Studie vycházela mimo jiné z dřívějších

výzkumů vychytávání tryptofanu erytrocyty, které dokládají, že abnormality v tomto vychytávání odrážejí narušení dynamické regulace dostupnosti plazmatického L-tryptofanu, na kterém je závislá následná syntéza serotoninu v mozku (Fernstrom a spol., 1972; Wurtman a spol., 1981; Leathwood, 1987; Young a Teff, 1989). Takové narušení bylo zjištěno v kinetických parametrech uptake L-tryptofanu erytrocyty u neléčených depresivních pacientů (Jeanningros a spol., 1996). Autoři studie předpokládají, že následkem výše uvedeného vzájemného ovlivnění vychytávání L-T3 a L-tryptofanu, povede porucha vychytávání L-T3 k ovlivnění uptake L-tryptofanu a tím způsobí narušení syntézy mozkového serotoninu. V popisované studii bylo zjištěno signifikantní zvýšení hodnot K_m a V_{max} u depresivních pacientů oproti kontrolám, přičemž toto zvýšení nesouviselo s tíží deprese. Nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi muži a ženami. Byla pozorována negativní korelace mezi V_{max} (ne však K_m) a věkem depresivních pacientů. Byla zjištěna také pozitivní korelace mezi V_{max} pro uptake L-T3 a tryptofanu v červených krvinkách, což opět prokazuje, že zde jde opravdu zřejmě o sdílení společného transportního systému.

Druhá studie navazovala na první studii (Moreau a spol., 2000). Jejím úkolem bylo popsat vývoj uptake T3 erytrocyty u klinicky euthyroidních pacientů s unipolární depresí léčených po dobu 28 dní fluvoxaminem. Do studie bylo zahrnuto 19 pacientů po sedmidenní periodě bez medikace („drug-free“ periodě) a stejné množství věkově odpovídajících zdravých kontrol. Před léčbou bylo u všech pacientů s depresí opět pozorované významné zvýšení V_{max} ve srovnání s kontrolami. Pokud byli ale pacienti v souboru zpětně rozděleni podle odpovědi na léčbu na respondéry (pokles na škále HAMD o 50%) a non-respondéry, potom bylo zvýšení kinetických parametrů statisticky významné jen u respondérů. Hodnocení se provádělo před započítáním léčby, 7. den a 28. den. Po prvním týdnu léčby fluvoxaminem v dávce 50mg došlo u non-respondérů k výraznému snížení V_{max} i K_m ve srovnání s respondéry, u kterých téměř nedošlo od začátku léčby ke změně. 28. den léčby fluvoxaminem v dávce 100-300 mg byly kinetické parametry respondérů srovnatelné s kontrolami, u non-respondérů došlo k opětovnému, tentokrát signifikantnímu zvýšení V_{max} i K_m , dokonce byly tyto hodnoty vyšší než před léčbou. Změny kinetických parametrů vyplývající z této studie by mohly být hodnoceny jako prediktor špatné odpovědi na léčbu a respondéři by se tudíž dali odlišit od non-respondérů už na předléčebné úrovni. Lze předpokládat, že parametry uptake T3 do erytrocytů se

mění při vzniku deprese /resp. podtypu deprese rezistentní na léčbu/ a v průběhu její léčby.

5.3 Membránová fluidita a její vliv na L-T3 uptake

Změny parametrů vychytávání T3 erythrocyty mohou být ovlivněny změnami vlastností membránového přenašeče pro T3 a tryptofan. Aktivita membránových přenašečů může být ovlivněna vlastnostmi lipidové části membrán, především složením a uspořádáním molekul v lipidové dvojvrstvě.

Plazmatická membrána je tvořena fosfolipidovou dvojvrstvou v podobě tzv. tekuté mozaiky. V této membráně jsou zastoupeny různé druhy mastných kyselin, které se specificky vyskytují v různých buňkách odlišných tkání. Do lipidové dvojvrstvy jsou zanořeny membránové proteiny, které tvoří mimo jiné transportní systémy. Poměr fosfolipidových molekul k molekulám proteinů je přibližně 50:1.

Fosfolipidová dvojvrstva je ve stálém pohybu. V prvním přiblížení se lze dívat na vnitřek lipidové dvojvrstvy biologické membrány jako na homogenní neasociovanou isotropní nestlačitelnou kapalinu, jejíž vlastnosti jsou charakterizovány jedinou konstantou. V analogii s mechanikou kontinua je tato konstanta označována jako viskozita nebo fluidita, resp. tekutost. V případě lipidových dvojvrstev bylo zavedeno označení mikroviskozita.

Fluidita je závislá na teplotě, ale hlavně na druhu mastných kyselin, množství nenasycených zbytků mastných kyselin ve fosfolipidech a zastoupení cukerných složek v membránových glykolipidech a glykoproteinech. Čím více nenasycených řetězců mastných kyselin, tím je membrána tekutější. Fluiditu ovlivňuje bezpochyby také přítomnost cholesterolu, který je uložen mezi fosfolipidovými molekulami a snižuje fluiditu membrán (zvyšuje její viskozitu).

Mikroviskozita, tj. převrácená hodnota fluidity, je používána pro vyjádření relativních změn dynamických vlastností membrány při změnách jejího složení nebo vlivem fyzikálních či chemických faktorů (včetně psychofarmak). Její změny lze kvalitativně sledovat měřením anizotropie fluorescence vhodných fluorescenčních sond. Metoda fluorescenčních sond je založena na měření intenzity, emisního spektru nebo polarizace fluorescence malých hydrofobních nebo amfifilních molekul, jejichž fluorescenční parametry se mění v závislosti na některých vlastnostech jejich mikrookolí. Sondas se navážou do membrány a poskytují informace o pohyblivosti membránových molekul, o membránovém potenciálu nebo o polaritě místa, kde se

nacházejí. Obecně zvýšení anizotropie fluorescence sondy znamená zvýšení mikroviskozity /snížení fluidity/. Nejčastěji používaná membránová sonda pro sledování změn mikroviskozity lipidových dvojvrstev je 1,6-difenyl-1,3,5-hexatrien (DPH). DPH nemá náboj a je lokalizován v hydrofobním vnitřku lipidové dvojvrstvy a v hydrofobních vazebných místech proteinů. Tyčinkový tvar molekul DPH způsobuje jejich částečnou uspořádanost v membránách (Fišar a Jiráček, 2001).

Membránová mikroviskozita je veličina ovlivňující vlastnosti řady membránových proteinů (receptorů, iontových kanálů, enzymů, přenašečů). Specifické změny jejich funkce mohou být vyvolány interakcemi lipid – protein. Pozornost je v psychiatrickém výzkumu věnována hlavně cholesterolu a kyselým fosfolipidům – fosfatidylserinu a fosfatidylinositolu. V případě přenašeče pro L-T3 v erytrocytárních membránách byla popsána závislost jejich vazebných vlastností pro L-T3 na fosfolipidovém složení membrán. (Samson a spol., 1996) Změny vlastností přenašeče by se možná daly dát vysvětlit např. změnami lipidového složení erytrocytárních membrán v případě, že by se jednalo o membránový protein závislý na lipidech. Změna ve složení membránových lipidů znamená rozdílné rozdělovací koeficienty psychotropních látek mezi vodnou fází a membránu, což by mohlo souviset s farmakorezistencí deprese.

Veličiny charakterizující transport přes membránu	
V_{max}	maximální rychlost transportu do buňky \approx satureovatelné množství přenašečů
K_m	zdánlivá Michaelisova konstanta; hodnota koncentrace transportované látky, při níž dosahuje rychlost transportu do buňky poloviny V_{max} . Odráží afinitu přenašeče k substrátu

Tab 19 Veličiny charakterizující transport přes membránu /vychytávání L-T3 přes membránu/

Charakteristiky tekutosti membrány	
Fluidita	Tekutost membrány, snadnost pohybu komponent lipidové dvojvrstvy
Mikroviskozita	Obrácená hodnota fluidity Kvalitativně se sleduje měřením anizotropie fluorescence fluorescenčních sond, např. 1,6-difenyl-1,3,5-hexatrienu (DPH).

Tab 20 Charakteristiky tekutosti membrány

III. PRAKTICKÁ ČÁST

1. CÍLE VÝZKUMNÉ PRÁCE

Dizertační práce je koncipována na bázi faktu, že funkce transmitterových systémů je obecně ovlivněna membránovým přenosem. Změny v buněčných membránách by tedy mohly být odrazem změn na systémové úrovni.

V předchozí práci, kdy jsme měřili kinetické parametry vychytávání serotoninu do trombocytů, jsme potvrdili propojenost membránových změn (aktivity membránového přenašeče pro serotonin, SERT) a funkce centrálního serotoninového systému (Fišar a spol., 2005).

U deprese jsou uváděny změny funkce hypotalamo-pituito-thyroidální osy, periferním modelem odrážejícím dění v CNS by mohly být erytrocyty. Předmětem této výzkumné práce bylo měření kinetických parametrů vychytávání L-trijodthyroninu, tj. V_{max} a K_M , které ukazují funkci transportních membránových systémů. Bylo vycházeno z následujících předpokladů:

- 1) změněná schopnost vychytávání L-trijodthyroninu erytrocyty by mohla být markerem, který reflektuje narušenou funkci HPT osy a tím vulnerabilitu ke vzniku deprese;
- 2) Uptake trijodthyroninu může souviset se změnami vlastností buněčných membrán.

Základním cílem studie přitom bylo ověřit tyto stěžejní hypotézy:

- 1) membránový přenos L-trijodthyroninu je odlišný u pacientů s depresí a u zdravých kontrol a odráží změny na systémové úrovni;
- 2) funkce membránového přenašečového systému je ovlivněna změnou membránové fluidity;
- 3) užíváním antidepresiv dochází u pacientů s depresí k normalizaci parametrů.

Praktická část výzkumu byla provedena na buňkách izolovaných z periferní lidské krve. Uptake radionuklidem značeného L-T3 do erytrocytů byl měřen námi modifikovanou metodou a kinetické parametry byly určeny před léčbou a následně po 1 měsíci podávání citalopramu (antidepresivum působící primárně jako selektivní inhibitor reuptake serotoninu) a byly porovnány se zdravými kontrolami.

Vzhledem k tomu, že aktivita transportéru pro L-T3 může být ovlivněna vlastnostmi lipidové části buněčné membrány, byly z erytrocytů izolovány

plazmatické membrány (ghosty) a metodou fluorescenční spektroskopie byly určeny změny dynamických vlastností (fluidity) jejich lipidové dvojvrstvy.

Snažili jsme se zjistit, jaký vliv má deprese a podávání citalopramu na vlastnosti uptake L-T3 do erytrocytů a zda existuje korelace uvedených membránových změn, parametrů vychytávání L-T3 a klinického hodnocení.

Na základě těchto výsledků byla diskutována úloha osy hypalamus-hypofýza-štítná žláza, vychytávání L-T3 do erytrocytů a úloha membránových lipidů při vzniku a léčbě afektivních poruch.

2. METODA

2.1 Charakteristika sledovaného souboru

Osoby s depresí

Studie se zúčastnilo 24 osob s depresivním onemocněním. Soubor byl získán náhodným výběrem osob s depresivní poruchou mírnou až těžkou první nebo opakovanou atakou (diagnózy F 32.0 – F 32.3.; F 33.1-F33.2 dle klasifikace ICD 10) přijatých v letech 2000 a 2001 na Psychiatrickou kliniku 1. LF UK k hospitalizaci nebo k ambulantní léčbě. Zúčastnění pacienti nebyli v době zařazení do studie léčení minimálně 5 měsíců žádnými antidepresivy. U 20 osob byla deprese diagnostikována prvně a nebyli dosud léčení žádným antidepresivem („drug naive“). Z celkového počtu 24 pacientů (průměrný věk \pm S.D. = 37 ± 13 roků) bylo 12 žen (39 ± 10) a 12 mužů (35 ± 15).

Všechny zařazené osoby vyslovily s účastí souhlas a byly informovány o účelu a obsahu studie. Žádný z účastníků nebyl v přímém či nepřímém vztahu k výzkumníkům nebo výzkumu.

Pacienti byli klinicky zhodnoceni Hamiltonovou škálou deprese (HAMD; Hamilton 1960) a Beckovou sebesuzovací škálou deprese (BDI; Beck 1974), přičemž klinické hodnocení provedl stejný lékař vyškolený pro práci s uvedenými posuzovacími škálami.

Po klinickém hodnocení jsme odebrali mezi 8. a 10. hodinou ráno 8ml krve na vyšetření hladin volného thyroxinu (fT4) a thyroideálního stimulačního hormonu (TSH) a 4 ml nesrážlivé krve na změření kinetických parametrů uptake L-T3 do erytrocytů a následné změření membránové fluidity.

Do studie byli zařazeni pouze klinicky euthyroidní osoby, které se neléčily žádnými léky, které by ovlivňovaly funkci HPT osy. Připomínám, že rozmezí normálních hodnot je 9,8 – 23,1 pmol/l pro fT4 a 0,500 – 6,00 mIU/l pro TSH. Vyšetření hladin fT4 a TSH u zařazených osob potvrdilo jejich euthyroidní status.

Po klinickém vyšetření a úvodních odběrech bylo depresivním pacientům nasazeno antidepresivum ze skupiny SSRI - citalopram (Seropram, Citalec). Dávkování citalopramu bylo v rozmezí 20 – 60 mg/den.

Po 1 měsíci (28 - 31 dní) byli pacienti znovu zhodnoceni klinicky Hamiltonovou a Beckovou škálou a byly odebrány 4 ml krve na změření kinetických parametrů vychytávání L-T3 a změření membránové fluidity erytrocytárních ghostů.

Při druhém hodnocení a odběru bylo vyřazeno 5 osob, a to z důvodu nesplnění kritérií studie (změna antidepresiva, vysazení antidepresiva, nebyl schopen přijít ve sjednaném termínu apod.)

(viz tab 21)

Kontroly

Kontroly tvořily věkově odpovídající osoby, které se neléčily psychiatricky ani z důvodu poruchy štítné žlázy. Nešlo o osoby, které by byly v přímém vztahu k výzkumníkům nebo výzkumu. Celkový počet kontrol byl 19 osob. Kontrolám byly odebrány 4 ml krve na změření kinetických parametrů uptake L-T3 erytrocyty a na následné změření membránové fluidity erytrocytárních ghostů.

(viz tab 21)

2.2. Metoda měření vychytávání L-T3 erytrocyty a mikroviskozity

Zpracování krve

4 ml nesrážlivé krve byly odebrány mezi 8:00-10:00 hod. do sterilní vakuované zkumavky (BD Vacutainer 9NC s 0,129 M citrátem sodným jako antikoagulantem). Odebrané vzorky byly zpracovány během následujících 2 hodin po odběru. Krev byla promíchána a centrifugována v umělohmotných zkumavkách při 200g, 20°C, 15 min. Poté byla odebrána plazma obohacená trombocyty i s horní vrstvou erymasy a pelet

červených krevních buněk (RBC) byl 3 krát promyt chladným pufrům T (centrifugováno při 4°C, 1000 g, 10 min.).

Následně byla změřena koncentrace erytrocytů a část vzorku byla naředěna na koncentraci 10^9 RBC/ml pro bezprostřední měření vychytávání L-T3; zbytek byl použit pro přípravu ghostů.

Uptake L-T3 do erytrocytů

Uptake trijodthyroninu do erytrocytů byl měřen modifikovanou metodou dle Osty a spol. (1990) a Moreau a spol. (1998, 2000). Promyté RBC naředěné pufrům T na koncentraci 10^9 RBC/ml byly použity pro měření kinetiky uptake L-T3. Saturační křivky byly změřeny pro 12 různých koncentrací L-T3.

V umělohmotných zkumavkách bylo 200 μ l RBC ($2 \cdot 10^8$ RBC) naředěno různými objemy pufru T (1200-1790 μ l) a preinkubováno v 37°C po dobu cca 12 minut. Uptake L-T3 do erytrocytů byl startován přidáním 12 různých objemů (10-600 μ l) zásobního roztoku L-T3 o koncentraci 800 nM (Sigma), do něhož byl jako radioaktivní tracer přidán 125 I značený L-T3 ($[^{125}\text{I}]\text{L-T3}$), tak aby výsledná specifická aktivita zásobního roztoku byla kolem 16 kBq/ml (cca 10^6 CPM/ml). Výsledný objem vzorku pro měření uptake byl 2 ml, koncentrace buněk 10^8 RBC/ml. Objemy $[^{125}\text{I}]\text{L-T3}$ byly zvoleny tak, aby výsledné koncentrace L-T3 pro uptake do erytrocytů byly v rozmezí 4 nM až 240 nM. Po přidání značeného L-T3 byly zkumavky naplněny 95% O_2 s 5% CO_2 , uzavřeny a inkubovány v 37°C po dobu 15 minut. Bylo ověřeno, že i po této době dochází k přibližně lineárnímu nárůstu uptake L-T3 do buněk. Volný a nespecificky navázaný $[^{125}\text{I}]\text{L-T3}$ (tj. $[^{125}\text{I}]\text{L-T3}$ v roztoku mimo RBC nebo adsorbovaný na povrchu buněk) byl odstraněn rychlou filtrací vzorků přes filtry ze skleněných mikrovláken (Whatman, typ GF/C) impregnovaných v polyetyleniminu (Sigma). Filtry byly promyty 2 krát 3 ml ledového pufru B a po přidání scintilačního roztoku proměřeny na scintilačním čítači LS 6000IC (Beckman).

Nesaturovatelný uptake L-T3 (pasivní transport) byl určen změřením vzorků při 2°C, tj. RBC byly před i po přidání $[^{125}\text{I}]\text{L-T3}$ inkubovány v ledové vodě.

Příprava erytrocytárních ghostů

Plazmatické membrány z erytrocytů (ghosty) byly izolovány postupem podle Dodge a spol. (1963). Stručně, erytrocyty byly 3 krát promyty pufrům A

(centrifugováno při 4°C, 1000 g, 10 min.) a poté byly naředěny hypotonickým pufrém A (pufr A naředěný 20 krát destilovanou vodou) v poměru 1:30, pečlivě se promíchány a centrifugovány (20000 g, 4°C, 40 min). Supernatant byl pečlivě odstraněn a ghosty 3krát promyty hypotonickým pufrém A. Nakonec byly ghosty resuspendovány v 1,5 ml hypotonického pufru A, bylo odebráno 10 µl pro měření fosforu (podle Bartlett 1959; Wagner a spol. 1962) a vzorek byl zamražen pro následné měření membránové fluidity metodou fluorescenčních sond.

Metoda fluorescenčních sond

Pro měření relativních změn fluidity plazmatických membrán byla použita metoda fluorescenčních sond (Lakowicz, 1999) s hydrofobní membránovou sondou 1,6-difenyl-1,3,5-hexatrien (DPH, Sigma). DPH byl rozpuštěn v acetonu v koncentraci 6 mM a tento zásobní roztok byl uložen v mrazničce. Pro měření byly připraveny vždy čerstvé roztoky v pufru A v koncentraci 6 µM DPH. Tyto roztoky byly smíchány s pufrém A a suspenzí ghostů tak, aby výsledná koncentrace DPH byla 2 µM a koncentrace fosfolipidů cca 100 µM. Po 60 minutách inkubace v 37°C byla měřena polarizovaná fluorescence při excitační vlnové délce 350 nm a emisní vlnové délce 450 nm na spektrofluorometru FluoroMax-3 (Jobin Yvon, Horiba).

Každé měření daného vzorku bylo opakováno alespoň 10x a z výsledných hodnot byl vypočten průměr.

Použité chemikálie a roztoky

- Pufr A (pro promývání RBC): 120 mM NaCl, 10 mM KCl, 30 mM Tris, pH 7,4.
- Hypotonický pufr A (pro přípravu ghostů): pufr A 20x naředěný destilovanou vodou, pH 7,4.
- Pufr T (pro uptake): 125 mM NaCl, 20 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 10 mM glukóza, 4,05 mM Na₂HPO₄, 0,95 mM NaH₂PO₄; před použitím probubláván 95% O₂ s 5% CO₂, pH 7.
- Pufr B (pro promývání filtrů): 120 mM NaCl, 10 mM KCl, 30 mM Tris, 10 µM L-T3, pH 7,4
- Zásobní roztok 20 mM L-T3 v 1 M NaOH.

- Roztok 800 nM [¹²⁵I]L-T3 o specifické aktivitě cca 16 kBq/ml vzniklý smísením pufru T, roztoku 80 µM neznačeného L-T3 (Sigma) a zásobního roztoku [¹²⁵I]L-T3 o specifické aktivitě 114 MBq/µg (Amersham Pharmacia Biotech UK Ltd., England).

2.3 Analýza dat

Uptake L-T3 do RBC je pasivní zprostředkovaný transport (facilitovaná difúze), jehož vlastnosti lze charakterizovat analogickými parametry jako pro enzymovou kinetiku nebo vazbu ligandů ke specifickým receptorům. Jedná se o transport podřizující se Michaelis-Mentenově kinetice charakterizované zdánlivou Michaelisovou konstantou K_M a maximální rychlostí V_{max} . Pro výpočet uvedených kinetických parametrů jsme použili nelineární regresní analýzu - program AccuFit Saturation Two-Site software (Beckman).

Limitující prostupnost za nízkých (fyziologických) koncentrací byla počítána jako poměr V_{max}/K_M , kdy tento poměr je měřítkem efektivity transportního systému.

Statistická Analýza

Všechny hodnoty jsou uvedeny jako průměr \pm směrodatná odchylka (S.D.) nebo \pm interval spolehlivosti při hladině spolehlivosti 95% (CONF95). Pro srovnání odpovědí depresivních pacientů před a po léčbě citalopramem bylo použito Wilcoxonova párového testu. Mannův-Whitneyův U-test byl použit pro porovnání kontrol a depresivních pacientů před a po léčbě citalopramem. Spearmanův korelační koeficient R byl použit pro kvantifikaci vztahu dvou proměnných (v korelační matici byly chybějící hodnoty vynechány párově). Normalita rozdělení hodnot byla ověřena *Chi*-kvadrát testem a Kolmogorovovým-Smirnovovým testem. Použití *t*-testů a Pearsonova korelačního koeficientu dalo výsledky statistik velmi podobné jako při použití neparametrických metod uvedených výše.

3. VÝSLEDKY

Data týkající se pacientů účastnících se studie a kontrolní skupiny jsou uvedena v tabulce 21. Byly změřeny kinetické parametry vychytávání L-T3 do erytrocytů u 24 osob s depresí před začátkem léčby a u 19 z nich po jednom měsíci farmakoterapie citalopramem v denní dávce 20 až 60 mg (tabulka 22). Dále bylo provedeno 19 měření kontrolních vzorků a byla testována hypotéza o nulovém rozdílu průměrných hodnot určených pro kontroly a pro depresivní pacienty před a po léčbě.

Vlivem léčby došlo u všech studovaných depresivních pacientů k významnému poklesu skóre v hodnocených škálách (průměr \pm S.D.; BDI = 16,1 \pm 7,5 před léčbou oproti 7,8 \pm 4,8 po léčbě, $p=0,0002$; HAMD = 21,3 \pm 4,0 před léčbou oproti 6,8 \pm 3,1 po léčbě, $p<0,0001$).

Depresivní osoby před léčbou vykazovaly signifikantně významně vyšší hodnoty kinetických parametrů transportu L-T3 ve srovnání s kontrolami ($K_M = 166,5 \pm 68,2 : 116,1 \pm 62,1$ nM, $p=0,019$; $V_{max} = 5,77 \pm 2,49 : 3,67 \pm 1,77$ pmol/min./ 10^8 buněk, $p=0,0042$).

Po jednom měsíci léčby citalopramem zůstaly hodnoty parametrů uptake nadále zvýšené oproti kontrolním hodnotám ($K_M = 176,0 \pm 68,4$ oproti $116,1 \pm 62,1$ nM, $p=0,0093$; $V_{max} = 5,48 \pm 2,44$ ku $3,67 \pm 1,77$ pmol/min./ 10^8 buněk, $p=0,015$).

Nebyla zjištěna statisticky významná změna měřených parametrů po jednoměsíční léčbě ve srovnání s hodnotami před jejím začátkem ($K_M = 166,5 \pm 68,2$ oproti $176,0 \pm 68,4$ nM, $p=0,66$; $V_{max} = 5,77 \pm 2,49$ oproti $5,48 \pm 2,44$ pmol/min./ 10^8 buněk, $p=0,71$). Ani při použití dvouvýběrového párového t-testu na střední hodnotu nebo při testování procenta změny parametrů K_M a V_{max} nebyly zjištěny významné změny po jednoměsíční léčbě citalopramem.

Při odděleném zpracování dat pro ženy a muže, zůstaly výsledky kvalitativně stejné, jako při celkovém vyhodnocení, pouze došlo v některých případech ke změně statistické významnosti pozorovaných změn.

Z hodnot K_M a V_{max} byla vypočtena limitní permeabilita (V_{max}/K_M) při nízkých (fyziologických) koncentracích L-T3. Ve srovnání s kontrolami nedošlo k významné změně tohoto parametru při depresi ($0,0356 \pm 0,0101$ oproti $0,0345 \pm 0,0105$ min⁻¹, p

= 0,74), ani po léčbě citalopramem ($0,0315 \pm 0,0095$ oproti $0,0345 \pm 0,0105 \text{ min}^{-1}$, $p = 0,37$). Nejvýraznější změna byla při srovnání hodnot před léčbou a po ní ($p = 0,19$).

V kontrolní skupině byly pozorovány statisticky významně nižší kinetické parametry uptake L-T3 ve skupině žen oproti mužům a to jak pro K_M ($85,6 \pm 65,4$ ku $143,5 \pm 43,5 \text{ nM}$, $p=0,044$), tak pro V_{\max} ($2,80 \pm 1,72$ ku $4,45 \pm 1,41 \text{ pmol/min./}10^8$ buněk, $p=0,045$).

Rozdíl mezi pohlavími byl také výrazný ve skupině depresivních osob před léčbou ($K_M = 133,9 \pm 53,4$ oproti $199,1 \pm 65,8 \text{ nM}$, $p=0,018$; $V_{\max} = 4,94 \pm 2,66$ oproti $6,60 \pm 1,97 \text{ pmol/min./}10^8$ buněk, $p=0,11$), zatímco po jednom měsíci léčby citalopramem nebyly pozorovány významné rozdíly mezi ženami a muži ($K_M = 179,8 \pm 73,2$ oproti $169,4 \pm 58,8 \text{ nM}$, $p=0,77$; $V_{\max} = 5,68 \pm 2,26$ oproti $5,14 \pm 2,70 \text{ pmol/min./}10^8$ buněk, $p=0,66$).

Nebyly zjištěny významně odlišné hodnoty kinetických parametrů u osob s prvně diagnostikovaným depresivním onemocněním a u osob, které byly již v minulosti (před více než 5měsíci) léčeny antidepressivy.

Vzájemné vztahy mezi měřenými veličinami byly určeny spočtením matice korelačních koeficientů (tabulka 23). Jak se dalo očekávat byla zjištěna významná závislost mezi klinickým hodnocením před léčbou a po 1 měsíci podávání citalopramu určená pomocí skóre HAMD ($r = 0,641$, $p = 0,003$) nebo BDI ($r = 0,633$, $p = 0,004$). Dále byly pozorovány významné korelace mezi hodnotami parametrů K_M a V_{\max} a to jak před léčbou ($r = 0,819$, $p < 0,001$), tak po ní ($r = 0,749$, $p < 0,001$); tento vztah mezi K_M a V_{\max} platí i pro kontrolní skupinu ($r = 0,921$, $p < 0,001$).

Následně byla změřena anizotropie fluorescence sondy DPH v erytrocytárních ghostech připravených ze stejných vzorků krve jako pro měření uptake L-T3. Výsledky (Tabulka 22) ukazují, že u dosud neléčených depresivních pacientů před léčbou je anizotropie fluorescence DPH statisticky významně vyšší oproti kontrolám ($r_{\text{DPH}} = 0,2323 \pm 0,0065$ oproti $0,2279 \pm 0,0066$, $p = 0,034$). Po jenom měsíci léčby citalopramem došlo jen k nepatrnému poklesu tohoto parametru ($r_{\text{DPH}} 0,2316 \pm 0,0083$). Nebyla zjištěna významná korelace mezi anizotropií fluorescence DPH v ghostech a ostatními měřenými veličinami (tabulka 23).

Věk a klinické hodnocení deprese				
	Počet	Věk (roky)	BDI skóre	HAMD skóre
Pacienti s depresí před léčbou	24	37,3 ± 12,6	16,1 ± 7,5	21,3 ± 4,0
Pacienti s depresí Po 1 měsíci léčby	19	38,4 ± 12,3	7,8 ± 4,8***	6,8 ± 3,1***
Kontroly	19	35,6 ± 10,5	----	----

Tab 21. Věk a klinické hodnocení sledovaného souboru. Hodnoty jsou uvedeny jako ± S.D, červeně označené hodnoty znázorňují signifikantní významnost na hladině *** $p < 0,001$, určenou Wilcoxonovým testem.

		K_M (nM)	V_{max} (pmol/min/ 10^8 RBC)	V_{max}/K_M (ml/min/ 10^8 RBC)	r_{DPH}
Depresivní pacienti před léčbou	mean	166,5*	5,77**	0,0356	0,2323*
	S.D.	68,2	2,49	0,0101	0,0065
	CONF95	27,3	0,99	0,0040	0,0026
	N	24	24	24	24
Depresivní pacienti po 1 měsíci léčby	mean	176,0**	5,48*	0,0315	0,2316
	S.D.	68,4	2,44	0,0095	0,0083
	CONF95	30,8	1,10	0,0043	0,0039
	N	19	19	19	18
Kontroly	mean	116,1	3,67	0,0345	0,2279
	S.D.	62,1	1,77	0,0105	0,0066
	CONF95	27,9	0,80	0,0047	0,0029
	N	19	19	19	20

Tab 22. Kinetické parametry uptake L-T3 a anizotropie fluorescence DPH měřené na erytrocytárních ghostech depresivních pacientů a kontrol.

V_{max} - maximální rychlost vtoku L-T3 do buněk (pmol na 10^8 RBC za 1 minutu); K_M - konstanta charakterizující koncentraci mimobuněčného L-T3, při níž je rychlost transportu rovna polovině maximální rychlosti (nmol/l); poměr V_{max}/K_M – reprezentuje permeabilitu při limitně nízké koncentraci L-T3; S.D. – směrodatná odchylka, N – počet hodnot, CONF95 – interval spolehlivosti pro střední hodnotu při hladině spolehlivosti 95%.

Zvýrazněné hodnoty se signifikantně odlišují od kontrol na hladině * $p < 0,05$ or ** $p < 0,01$; použito Mann-Whitneyho testu. Nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly parametrů před a po 1 měsíci léčby.

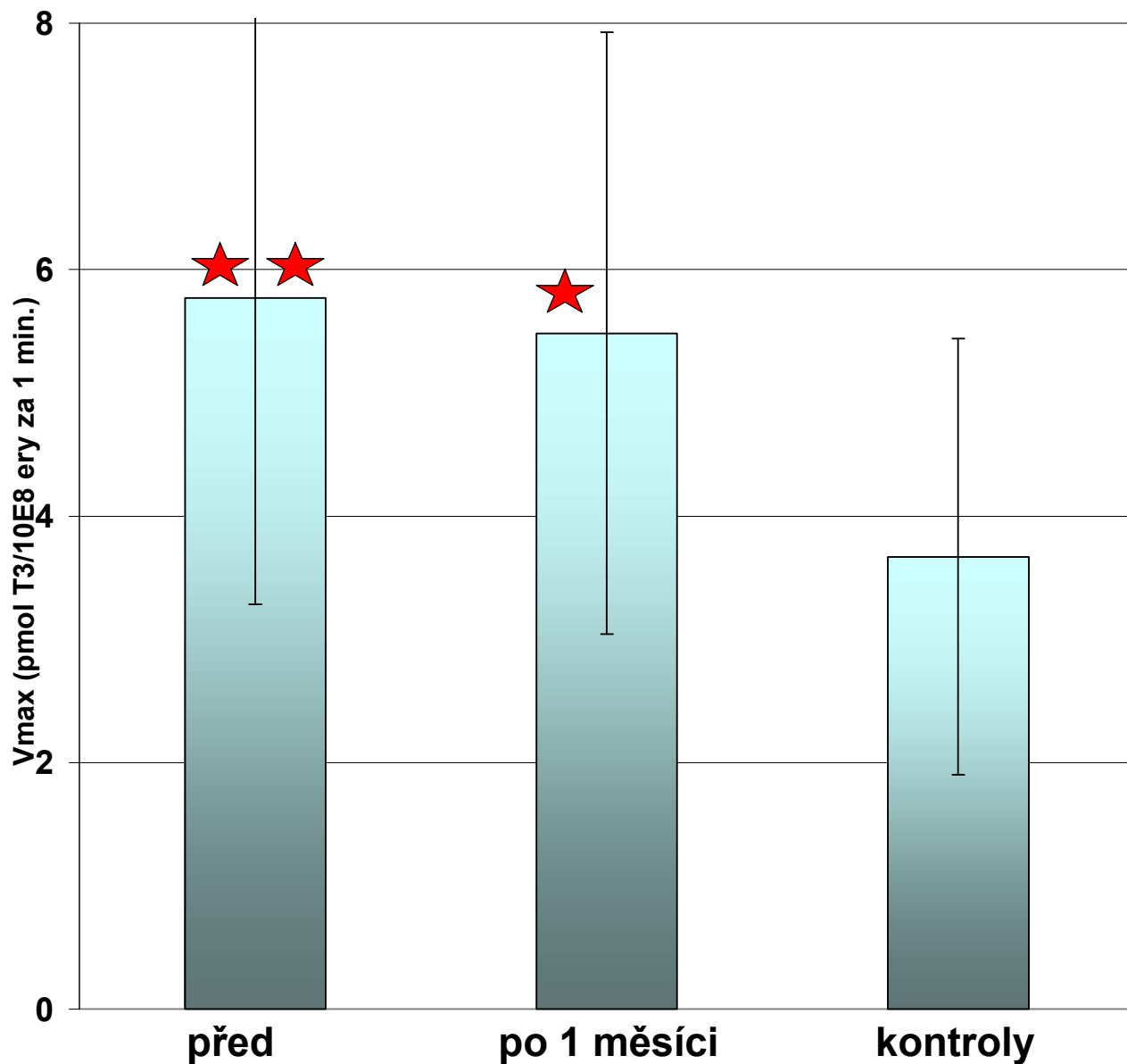
	Před léčbou					Po 1 měsíci léčby					
	BDI1	K _M 1	V _{max} 1	V _{max} 1/K _M 1	r _{DPH} 1	HAMD2	BDI 2	K _M 2	V _{max} 2	V _{max} 2/K _M 2	r _{DPH} 2
HAMD1	0.652**	-0.268	-0.080	0.226	0.372	0.666**	0.428	0.053	-0.258	-0.436	-0.063
BDI1	1.000	-0.464*	-0.466*	-0.086	0.212	0.339	0.583**	-0.089	-0.075	-0.301	-0.065
K _M 1		1.000	0.850**	-0.178	0.097	-0.176	-0.339	0.223	0.119	0.114	0.164
V _{max} 1			1.000	0.292	-0.058	0.034	-0.337	0.174	0.117	0.225	0.026
V _{max} 1/K _M 1				1.000	-0.293	0.202	-0.172	-0.088	-0.040	0.153	-0.172
r _{DPH} 1					1.000	0.166	0.344	-0.172	-0.360	-0.284	0.061
HAMD2						1.000	0.543*	-0.041	-0.229	-0.405	0.031
BDI2							1.000	-0.001	-0.008	-0.108	0.143
K _M 2								1.000	0.783**	-0.016	0.094
V _{max} 2									1.000	0.591**	-0.172
V _{max} 2/K _M 2										1.000	-0.360

Tab 23. Korelace mezi klinickým hodnocením, parametry uptake L-T3 a anizotropií fluorescence sledovaného souboru pacientů s depresí před a po 1 měsíci léčby; Spearman R.

HAMD – Hamiltonova škála hodnocení deprese, BDI – Beckova sebehodnotící škála deprese, K_M – zdánlivá Michaelisova konstanta pro uptake L-T3 do erytrocytů (nM), V_{max} – maximální rychlost vtoku L-T3 do erytrocytů (pmol/min·10⁸ buněk), V_{max}/K_M – limitní prostupnost při nízkých koncentracích L-T3 (min⁻¹), r_{DPH} – anizotropie fluorescence DPH v erytrocytárních ghostech; hodnoty označené “1” jsou před léčbou, “2” po 1 měsíci léčby citalopramem.

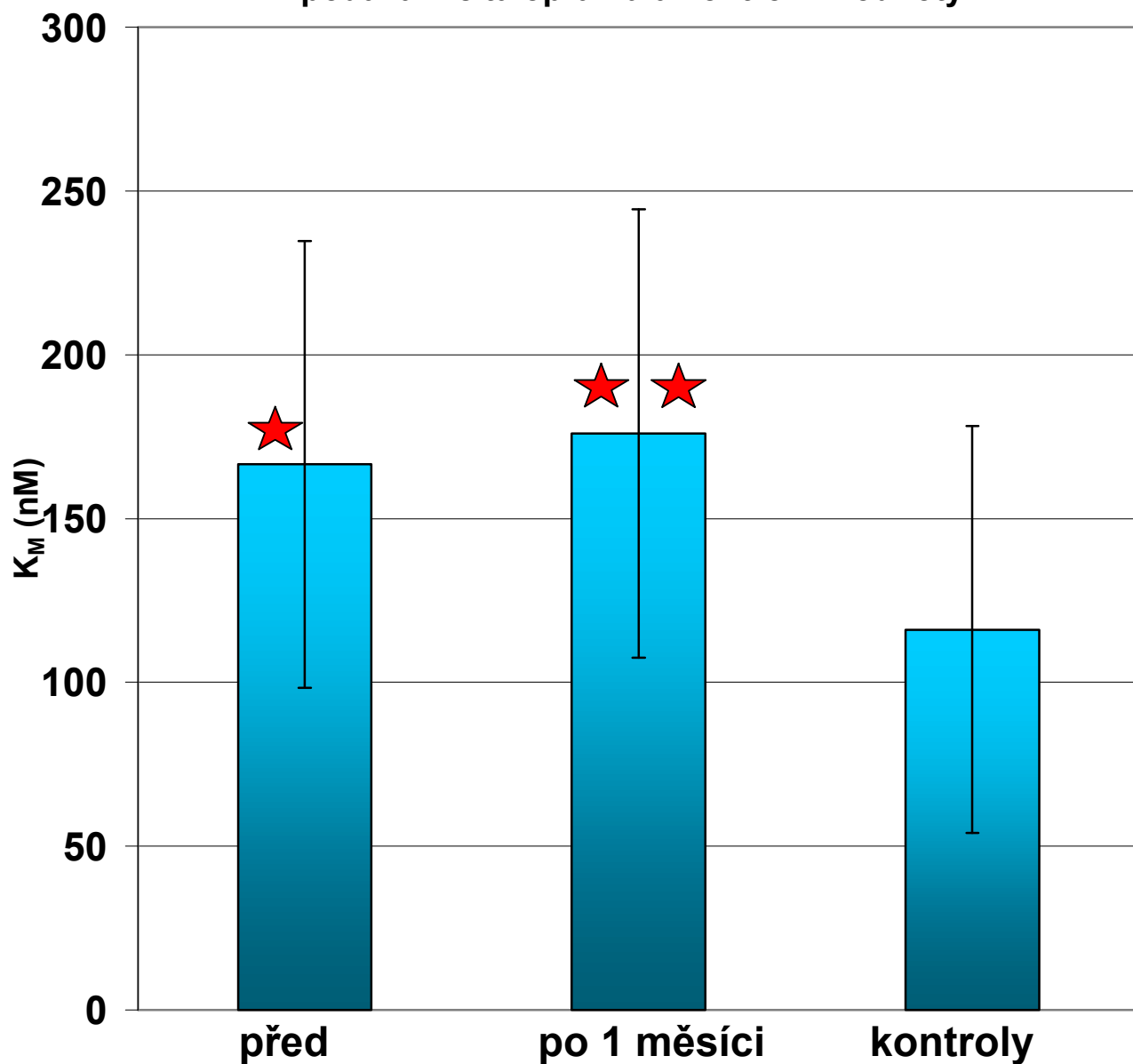
Vyznačené korelace jsou signifikantní na hladině *p<0.05 nebo **p<0.01

Uptake T3 do erytrocytů:
maximální rychlost transportu V_{max} před léčbou, po 1
měsíci podávání citalopramu a kontrolní hodnoty



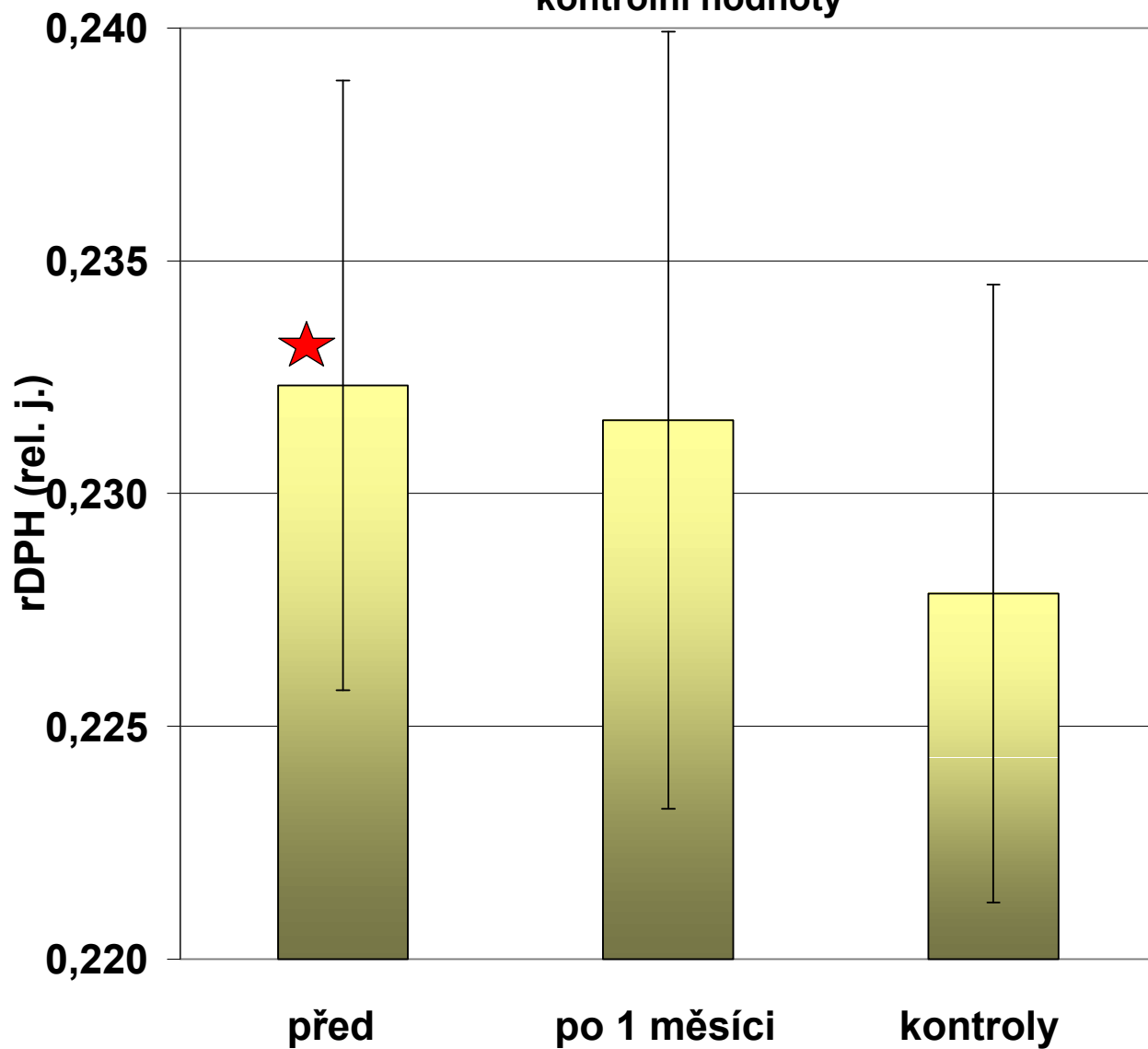
Graf 1. Maximální rychlost transportu – srovnání depresivních pacientů před léčbou, po 1 měsíci léčby a kontrol.

**Uptake T3 do erytrocytů:
disociační konstanta K_M před léčbou, po 1 měsíci
podávání citalopramu a kontrolní hodnoty**



Graf 2. Disociační konstanta K_m – srovnání depresivních pacientů před léčbou, po 1 měsíci léčby a kontrol.

**Anizotropie fluorescence DPH v ghostech:
před léčbou, po 1 měsíci podávání citalopramu a
kontrolní hodnoty**



Graf 3. Anizotropie fluorescence DPH (r_{DPH}) – srovnání depresivních pacientů před léčbou, po jednom měsíci léčby a kontrol.

4. DISKUSE

Prezentovaná data potvrzují úlohu červených krvinek v krevním transportu a homeostáze L-T3 a podporují tak hypotézu o pravděpodobné úloze HPT osy při depresivní poruše. Kinetika vychytávání L-T3 do erytrocytů je u deprese průkazně změněná.

Získané výsledky ukazují, že kinetické parametry uptake L-T3 do erytrocytů jsou zvýšené u depresivních pacientů před počátkem léčby ve srovnání s kontrolami. Přestože všechny zařazené osoby byly klinicky euthyroidní, je možné považovat kinetické parametry vychytávání trijodthyroninu do erytrocytů za určitý subklinický marker narušení funkce HPT osy.

Naše práce navazuje na výsledky studie Moreau a spol. (1998, 2000), ale zcela je nepotvrzuje. Rozdíly v absolutních hodnotách měřených kinetických parametrů K_m a V_{max} v naší a Moreauově práci mohou být vysvětleny odlišnou metodou separace extracelulárního a intracelulárního L-T3. Naše technika rychlé filtrace má ve srovnání s technikou centrifugace jisté výhody – jsme schopni rychleji oddělit nespecificky navázaný L-T3. Rozdílná metoda by nicméně neměla ovlivnit kvalitativní snížení v měřených parametrech po 4 měsíční léčbě fluvoxaminem, jak bylo stanoveno v práci Moreau (2000).

Naše výsledky potvrzují, v souladu s prací Moreau, signifikantní vzestup v kinetických parametrech uptake L-T3 do erytrocytů u depresivních pacientů před léčbou. V průběhu farmakoterapie nedošlo v našem souboru k významným změnám. Všichni pacienti reagovali dobře na léčbu antidepresivy, nelze tedy ze získaných dat diskutovat problematiku farmakorezistence. Práce Moreau a spol. (2000) však popisuje větší narušení kinetických parametrů vychytávání L-T3 u pacientů nedostatečně reagujících na antidepresivní léčbu.

Musíme dodat, že Moreau a spol. měl zařazenu lehce odlišnou skupinu pacientů – užíval 26 stupňovou HAMD, zatímco my 21 stupňovou, pouze 8 pacientů bylo „drug naive“. Perioda po kterou depresivní pacienti neužívali žádnou medikaci byla jen 7 dní („wash-out perioda“).

Dalším cílem naší studie bylo posoudit jaký vliv mají vlastnosti buněčných membrán, především fluidita, na erytrocytární uptake T3.

Byla zjištěna zvýšená anizotropie fluorescence sondy DPH v erytrocytárních membránách depresivních osob před léčbou i po 1 měsíci podávání citalopramu.

Vzhledem k tomu, že anizotropie fluorescence DPH odráží stupeň omezení pohybu sondy v anizotropním membránovém prostředí a tedy i stupeň omezení pohybu membránových molekul, lze předpokládat, že na změně kinetických parametrů uptake L-T3 do erytrocytů při depresi se podílí změna interakcí lipid-přenašeč.

Interpretace námi zjištěného zvýšení kinetických parametrů uptake není zcela jednoznačná.

Vyšší V_{\max} může znamenat jednak větší denzitu přenašečů v membráně, nebo pouze jejich zvýšenou aktivitu při nezměněné hustotě. Tato zvýšená aktivita by mohla být způsobena např. specifickou interakcí s určitými membránovými molekulami a/nebo změněnými dynamickými vlastnostmi lipidové dvojvrstvy, v níž je přenašeč zanořen.

Zvýšená hodnota K_M odpovídá kvalitativně snížení afinity přenašeče pro L-T3, tj. snížení jeho schopnosti vychytávat volný L-T3, zvláště při jeho nízkých koncentracích. Toto snížení afinity vazebného místa pro L-T3 si lze představit buď jako důsledek konformační změny vazebného místa způsobené alosterickou interakcí s jinou molekulou, nebo jako důsledek zanoření celého proteinu hlouběji do lipidové dvojvrstvy a tím změněné dostupnosti vazebného místa.

Vliv dynamických vlastností membrány na změnu kinetiky uptake podporují také výsledky naší další práce (Vevera a kol. 2005) a dosud nepublikované studie, kdy jsme měřili uptake [125 I]L-T3 do erytrocytů u osob s hypercholesterolémií.

Zvýšené plazmatické hladiny cholesterolu signifikantně korelovaly se zvýšením anizotropie fluorescence DPH v erytrocytárních membránách ve srovnání s kontrolami (průměr \pm S.D.; $r_{DPH} = 0.2376 \pm 0.0071$ to 0.2279 ± 0.0066 , $p < 0.001$). Kinetické parametry L-T3 uptake do erytrocytů byly také signifikantně zvýšeny ve srovnání s kontrolami ($K_M = 224.1 \pm 127.1$ to 116.1 ± 62.1 nM, $p = 0.00057$; $V_{\max} = 5.91 \pm 2.97$ to 3.67 ± 1.77 pmol/min $\cdot 10^8$ buněk, $p = 0.0072$). Celková účinnost vychytávání L-T3 do erytrocytů charakterizovaná poměrem V_{\max}/K_M však byla při hypercholesterolémií významně snížena ($V_{\max}/K_M = 0.0278 \pm 0.0062$ oproti 0.0345 ± 0.0105 min $^{-1}$, $p = 0.024$).

Dosud nebylo objasněno, zda jsou charakteristiky přenašeče pro L-T3 ovlivněny specifickými interakcemi lipid-protein (tj. např. cholesterol-přenašeč, fosfatidylserin-přenašeč atd.) nebo celkovým dynamickým stavem lipidové

dvojvrstvy, například uspořádáním a rotační a transrotační pohyblivostí membránových molekul.

Při výkladu změn kinetických parametrů uptake L-T3 do erytrocytů je nutno vzít v úvahu fyziologické koncentrace transportovaného ligandu. V případě volného L-T3 jsou totiž normální hodnoty v rozmezí 3,28 až 8,20 pmol/l a vzhledem k tomu, že zjištěné konstanty K_M leží v oblasti desítek až stovek nmol/l, je přenašeč pro L-T3 ve zcela nesaturovaném stavu. Při nízkých (fyziologických) koncentracích volného L-T3 roste úloha efektivity jeho vycytávání charakterizovaná afinitou přenašeče pro L-T3. Zvýšení V_{max} u depresivních pacientů potom může být snadno kompenzováno zvýšením K_M (snížením afinity). Může potom dojít k situaci, kdy významně odlišné parametry kinetiky uptake znamenají větší rychlost transportu do erytrocytů při nanomolárních koncentracích volného L-T3, avšak při jeho pikomolárních koncentracích není rychlost transportu prakticky změněna. Změna kinetických parametrů uptake L-T3 do RBC při depresi je dle našich výsledků takto kompenzována a je otázkou, nakolik je změna V_{max} a K_M vyvolávajícím nebo doprovodným znakem deprese.

5. SHRNUÍ VÝZKUMNÉ ČÁSTI

Ve výzkumné části této práce jsme se pokusili na periferním modelu, který představovaly červené krvinky, sledovat souvislost depresivní poruchy s parametry vychytávání L-trijodthyroninu. Uptake L-T3 do erytrocytů by mohl být odrazem narušení funkce hypotalamo-pituito-thyroidní osy. Tato základní premisa byla současně doplněna o další, a sice o předpoklad ovlivnění transportu L-T3 přes membránu jejím složením.

Platí, že L-trijodthyronin je transportován přes erytrocytární membránu usnadněnou difúzí pomocí stereospecifického satureovatelného přenašečového systému nezávislého na Na^+ .

Cílem naší výzkumné práce bylo sledovat změny kinetických parametrů vychytávání, tj. maximální rychlost V_{\max} a zdánlivou Michaelisovu konstantu K_M a změny v membránové fluiditě.

Předmětem pozorování byl výzkumný vzorek složený ze 24 osob s depresivní poruchou, které byly podrobeny měření před léčbou a jeden měsíc po léčbě citalopramem. Dosažená výsledná data byla srovnána se skupinou 19 zdravých kontrol. Biochemické parametry byly korelovány s klinickým hodnocením dle škál pro depresi.

Všechny zúčastněné osoby odpověděly adekvátně na antidepressivní léčbu.

Funkce přenašeče pro L-T3 je u deprese změněna, neboť kinetické parametry vychytávání L-T3 do erytrocytů byly u depresivních pacientů před léčbou signifikantně zvýšené proti kontrolám.

Po jednom měsíci léčby citalopramem sice došlo k výraznému zlepšení depresivní symptomatologie, kinetické parametry však zůstaly zvýšené ve srovnání s kontrolami.

Dále jsme dospěli ke zjištění, že funkce přenašeče pro L-T3 souvisí také se změnami lipidové dvojvrstvy, ve které je přenašeč zanořen. Anizotropie fluorescence 1,6-difenyl-1,3,5-hexatrienu (DPH) v erytrocytárních membránách, která odráží jejich mikroviskozitu (resp. fluiditu), byla signifikantně zvýšená ve skupině depresivních pacientů před léčbou ve srovnání s kontrolami. Po jednom měsíci léčby se neobjevila téměř žádná změna, nedošlo k žádné normalizaci hodnot směrem ke kontrolám.

Výsledky výzkumné práce podporují hypotézu, že i u klinicky euthyroidních osob s depresí můžeme nalézt subklinické markery odrážející narušení funkce

hypotalamo-pituito-thyroidální osy v patofyziologii afektivních poruch. Potvrzují také hypotézu, že změněná funkce této osy vede ke změně uptake L-T3 do erytrocytů. Kinetické parametry uptake L-T3 do erytrocytů přitom nekorelují s depresivní symptomatologií a jsou ovlivňovány vlastnostmi lipidové dvojvrstvy.

Hypotéza o narušení funkce HPT osy byla tedy propojena s membránovou hypotézou afektivních poruch, podle níž může náchylnost k depresi vzniknout v důsledku změn složení biofyzikálních vlastností lipidové části buněčných membrán.

O uptake L-T3 do erytrocytů bychom tedy v konečném důsledku mohli hovořit jako o membránovém periferním markeru odrážejícím narušení HPT osy u deprese.

IV. SUMMARY

At present, depressive disorders affect a considerable proportion of population, their incidence showing an increasing tendency in the developed world. The lifelong prevalence of depression is usually reported within 8-20 %; the illness afflicts about 100 million people every year, and every fifth individual (20 % females and 10 % males) undergo a depressive episode at least once in their life. Depression mostly afflicts people in their working age, i.e. people in the age of 25-35. It occurs in females twice as often as in males. Depression involves an intense subjective suffering accompanied with a disruption of normal everyday functioning. Moreover, when compared with the healthy population, there exists a thirty times higher danger of suicide in the people affected with depression. The illness unfortunately tends to become chronic, the probability of recurrence of an episode being 50%. Furthermore, some patients suffering from the depressive disorder do not adequately respond to an antidepressant therapy; we call such patients treatment-resistant.

There certainly exists a close relation between the endocrine and the central nervous system, most endocrine disorders being potentially accompanied with changes of psyche and vice versa. With affective disorders the most frequently reported disruption involves an interference with the function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, though various studies repeatedly acknowledged also deviations of the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis.

The most frequent findings comprise an altered serum thyrotropin response to thyrotropin releasing hormone, a transient serum hyperthyroxinemia, and flattening of the diurnal rhythm of the thyroid stimulating hormone.

Several hypotheses currently discussed in the medical science might elucidate changes in the function of the HPT axis in respect of affective disorders. One of them suggests it might be a form of the central subclinical hypothyroidism related to the system euthyroidism. Alternatively it might mean changes in the consequence of a lowered level of serotonin in the brain, or an altered activity of the beta-adrenergic receptors in the central nervous system, or the central dysregulation of the HPA and HPT axes.

The connection of the HPT axis with affective disorders is supported with efficacy of thyroid hormones in the affective disorder treatment. At present, the

triiodothyronin (T3) and thyroxin (T4) are used in particular in the therapy of resistant forms of the disorders. The underlying knowledge being that the deflection of the HPT axis may reflect an increased vulnerability to a relapse of the disease. Many studies have shown a positive potentiating effect of the T3 with tricyclic antidepressants, however, controlled studies with other types of antidepressants are still missing. Thyroxin medicated in a supraphysiological dose is effective in the therapy of the rapid cycling form of the bipolar affective disorder.

The interconnection of the endocrine and neuronal systems in respect to the pathogenesis of depression has not been explained so far. In our research we have to rely on non-straightforward methods; cell models, in particular those of erythrocytes and thrombocytes, or their membranes, are frequently used.

Another factor playing its role in the emergence of depression is a characteristic of cell membranes in specific areas of the brain: it consequently influences changes in the neuromediator systems. The character of a cell membrane might, hypothetically, decide about the accessibility of the binding site of a receptor. The transport via a cell membrane is influenced by its lipid composition and fluidity.

In the research part of the work we attempted, on a peripheral model represented by erythrocytes, to study the relation of the depressive illness to the parameters of the uptake of L-triiodothyronine (L-T3).

The uptake of L-triiodothyronine might reflect an interference with the function of the HPT axis. The underlying assumption was supplemented with another one assuming that the transport of L-T3 via a membrane is under the influence of the composition of the membrane.

The fact is that L-triiodothyronine is being transported via erythrocyte membrane by means of the facilitated diffusion with help of the stereospecific saturable mediator system independent of Na^+ .

We aimed at monitoring changes of kinetic parameters of the uptake, i.e. V_{max} , maximal velocity, and K_m apparent Michaelis constant, and changes in membrane fluidity.

The object of our research was a sample comprising 24 individuals suffering from a depressive disorder; they underwent measuring before and one month after the treatment with citalopram. The resultant data were compared with a group of 19

healthy controls. The biochemical parameters were correlated with clinical assessment based on the depression scales.

All the patients involved adequately responded to the antidepressant treatment.

With depression, the function of the transmitter for L-T3 is changed, for the kinetic parameters of the uptake of L-T3 into erythrocytes were, before the treatment, significantly higher in the depressive patients compared to the controls.

Furthermore, we have found out that the function of the transmitter for L-T3 is equally related to the changes of the lipid bilayer in which the transmitter seems to be immersed. The anisotropy of the fluorescence of 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatrien (DPH) in erythrocyte membranes RBC, which reflects their membrane microviscosity (and fluidity), was significantly increased in the group of depressive patients before the treatment in comparison with controls. After a month treatment there was virtually no alteration; no normalization of values towards controls took place.

The results of the research support the hypothesis that in clinically euthyroid patients suffering from depression we can find subclinical markers reflecting interference with the function of the hypothalamus-hypophysis-thyroid axis in the pathophysiology of the affective disorders; they also confirm the hypothesis that an altered function of the axis results in the change of the uptake of L-T3 into erythrocytes. The kinetic parameters of the uptake of L-T3 into erythrocytes, however, do not correlate with the depressive symptomatology and are affected by the characteristics of the lipid bilayer.

The hypothesis concerning violation of the function of the HPT axis was therefore interrelated with the membrane hypothesis of the affective disorders, which says that the vulnerability to depression can appear as a consequence of changes in the composition of biophysical characteristics of the lipid part of cell membranes.

We could therefore consider the L-T3 uptake into erythrocytes to be a membrane peripheral marker reflecting the violation of the HPT axis in depressions.

V. LITERATURA

Agid O, Lerer B. Algorithm-based treatment of major depression in an outpatient clinic: clinical correlates of response to a specific serotonin reuptake inhibitor and to Biochem J 1982; 208:27-34.

Alpert JE, Fava M. An open study of triiodothyronine augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors in treatment-resistant major depressive disorder. J Clin Psychiatry 2005;66(8):1038-42.

Altshuler LL, Bauer M, Frye MA, Gitlin MJ, Mintz J, Szuba MP, Leight KL, Whybrow PC. Does thyroid supplementation accelerate tricyclic antidepressant response? A review and meta-analysis of the literature. Am J Psychiatry 2001;158(10):1617-1622.

Andreasen NC, Black DW. Mood disorders. In: Introductory textbook of psychiatry-3rd edition. Arlington, American Psychiatric Publishing, Inc., 2001: 269-314.

Angel RC, Bootta JA, Morero RD, Farias RN: Solubilization and purification of a membrane associated 3,3',5 triiodo-L-thyronine binding protein from rat erythrocytes. Biochem J 1990, 270:577-82.

Appelberg BG, Syvalahti EK, Koskinen TE, et al. Patients with severe depression may benefit from buspirone augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: results from a placebo-controlled, randomized, double-blind, placebo wash-in study. J Clin Psychiatry 2001;62:448-452.

Appelhof BC, Brouwer JP, van Dyck R, Fliers E, Hoogendijk WJ, Huyser J, Schene AH, Tijssen JG, Wiersinga WM. Triiodothyronine addition to paroxetine in the treatment of major depressive disorder. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(12):6271-6.

Aronson R, Offman H, Joffe RT, Naylor D. Triiodothyronine Augmentation in the Treatment of Refractory Depression – A Meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1996; 53:842-847.

Atterwill CK. Effects of acute and chronic triiodothyronine (T3) administration to rats on central 5-HT and dopamine-mediated behavioural responses and related brain biochemistry. *Neuropharmacol* 1981;20:131-44.

Bahls SC, De Carvalho AG. The relation between thyroid function and depression: a review. *Rev Bras Psiquiatr* 2004;26(1).

Banki CM, Bissette G, Arato M, Nemeroff Ch. Elevation of Immunoreactive CSF TRH in Depressed Patients. *Am J Psychiatry* 1988; 145:1526 – 1531.

Bareš M, Praško J. Depresivní porucha. In: Seifertová D, Praško J, Hoschl C. *Postupy v léčbě psychických poruch.* Praha, Academia Medica Pragensis, 2004: 67-93.

Bauer M, London ED, Rasgon N, Berman SM, Frye MA, Altshuler LL, Mandelkern MA, Bramen J, Voytek B, Woods R, Mazziotta JC, Whybrow PC. Supraphysiological doses of levothyroxine alter regional cerebral metabolism and improve mood in bipolar depression. *Mol Psychiatry* 2005;10(5):456-69.

Bauer M, Whybrow PC. Thyroid hormone, neural tissue and mood modulation. *World J Biol Psychiatry* 2001;2:59-69.

Bauer M, Hellweg R, Baumgarten A. Hochdosierte Thyroxinbehandlung bei therapie-und prophylaxe-resistenten Patienten mit affektiven Psychosen, *Der Nervenarzt* 1998; 69:1019-1022.

Bauer M. High-dose Thyroxine in Prophylaxis Resistant Affective Disorder, *Biol Psychiatry* 1997;42:78S-79S.

Bauer MS, Whybrow PC. The Effect of Changing Thyroid Function on Cyclic Affective Illness in a Human Subject. *Am J Psychiatry* 1986; 143:633-636.

Baumgartner A, Campos-Barros A, Gaio U, Hassenius C, Frege I, Meinhold H. Effects of lithium on thyroid hormone metabolism in rat frontal cortex. *Biological Psychiatry* 1994;36:771-774.

Baumgartner A, Dubeyko D, Campos-Barros A, Eravci M, Meinhold H. Subchronic administration of fluoxetine to rats affects triiodothyronine production and deiodination in regions of the cortex and limbic forebrain. *Brain Res* 1994;635:68-74.

Baumgartner A, Gräf K-J, Kürten I, Meinhold H. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis in psychiatric patients and healthy subjects: Parts 1-4. *Psychiatry Res* 1988;24:271-332.

Beck AT, Beamesderfer A. Assessment of Depression: The Depression inventory. In: *Psychological Measurements in Psychopharmacology*. Ed. P. Pichot. Basel, Karger 1974, 151-169.

Black DW, Goldstein RB, Nasrallah A, Winokur G. The prediction of recovery using a multivariate model in 1471 depressed inpatients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1991;241:41-45.

Bondolfi G, Chautems C, Rochat B, Bertschky G, Baumann P. Non-response to citalopram in depressive patients: pharmacokinetic and clinical consequences of a fluvoxamine augmentation. *Psychopharmacology* 1996;128:421-425.

Bordet T, Thomas P, Dupuis B. Effect of pindolol of onset of action of paroxetine in the treatment of major depression: intermediate analysis of a double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Psychiatry* 1998;155:1346-1351.

Bosworth HB, Hays JC, George LK, Steffens DC. Psychosocial and clinical predictors of unipolar depression outcome in older adults. *Int J Geriatr Psychiatry* 2002; 17:238-246.

Burmeister LA, Ganguli M, Dodge HH et al. Hypothyroidism and cognition: preliminary evidence for a specific defect in memory. *Thyroid* 2001 11(12):1177-1185.

Campos-Barros A, Meinhold H, Stula M, Muller F, Kohler R, Eravci M, Putzien O, Baumgartner A. The influence of desipramine on thyroid hormone metabolism in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1143-1152.

Carpenter LL, Yasmin S, Price LH. A double-blind, placebo-controlled study of antidepressant augmentation with mirtazapine. *Biol Psychiatry* 2002;51:183-188.

Cleare AJ, Mc Gregor A, Chambers SM, O'Keane V. Thyroxine Replacement Increases Central 5-Hydroxytryptamine Activity and reduces Depressive Symptoms in Hypothyroidism. *Neuroendocrinology* 1996; 64:65-69.

Coffey W, Wilkinson WE, Weiner RD, et al. Quantitative cerebral anatomy in depression. A controlled magnetic resonance imaging study. *Arch Gen Psychiatry* 1993;50:7-16.

Corya SA, Andersen SW, Detke HC, et al. Long-term antidepressant efficacy and safety of olanzapine/fluoxetine combination: a 76-week open-label study. *J Clin Psychiatry* 2003;64:1349-1356.

Crispell KR, Coleman J. A study of the relative binding capacity of plasma proteins, intact human red cells, and human red cell stroma for radioactive I-131 labeled L-thyroxine. *J Clin Invest* 1956, 35: 475-80.

Češková E. Afektivní poruchy. In: Raboch J, Zvolský P et al.: *Psychiatrie*. Praha, Galén, 2001: 253-273.

DeBattisat C, Lembke A, Solvason H, Ghebremichael R, Poirier J. A prospective trial of modafinil as an adjunctive treatment of major depression. *J Clin Psychopharmacol* 2004;24:87-90.

DeBattista C, Solvason HB, Poirier J, Kendrick E, Schatzberg AF. A prospective trial of Bupropione SR augmentation of partial and non-responders to serotonergic antidepressants. *J Clin Psychopharmacol* 2003;23:27-30.

DeMontigny C, Grumberg F, Mayer A, et al. Lithium induces rapid relief of depression in tricyclic antidepressant drug nonresponders. *Br J Psychiatry* 1981;138:252-256.

Docter R, Krenning EP, Bos G, Fekkes DF, Hennemann G. Evidence that the uptake of triiodo-L-thyronine is carrier-mediated, but not energy-dependent. triiodothyronine augmentation. *Int J Neuropsychopharmacol* 2003 Mar;6(1):41-49.

Dozin B, Cahnmann HJ, Nikodem VM. Comparative characterization of thyroid hormone receptors and binding proteins in rat liver nucleus, plasma membrane and cytosol by photoaffinity labeling with L-thyroxine. *Biochemistry* 1985, 24: 5203-8.

Extein I, Pottash ALC, Gold MS. The thyrotropin-releasing hormone test in the diagnosis of unipolar depression. *Psychiatry Res* 1982;5:311-6.

Faber J, Galloe AM. Changes in Bone Mass during Prolonged Subclinical Hyperthyroidism due to L-thyroxine Treatment: a Meta Analysis, *Eur J Endocrinology* 1994, 130: 350-6.

Fagiolini A, Kupfer DJ. Is treatment-resistant depression a unique subtype of depression? *Biol Psychiatry* 2003; 53:640-648.

Fava M, Alpert J, Nierberg A, et al. Double-blind study of high dose fluoxetine versus lithium or desipramine augmentation of fluoxetine in partial responders and nonresponders to fluoxetine. *J Clin Psychopharmacol* 2002;22:379-387.

Fava M, Rosenbaum JF, McGrath PJ, Stewart JW, Amsterdam JD, Quitkin FM. Lithium and tricyclic augmentation of fluoxetine treatment for resistant major depression: a double-blind controlled study. *Am J Psychiatry* 1994;151:1372-1374.

Fava M, Uebelacker LA, Alpert JE, Nierenberg AA, Pava JA, Rosenbaum JF: Major depressive subtypes and treatment response. *Biol Psychiatry* 42:568-576.

Fava M, Zajecka JM, Jeffries H, Fawcett J. New approaches to the treatment of refractory depression. *J Clin Psychiatry* 2000;61(suppl 1):26-32.

Fava M. Diagnosis and Definition of treatment resistant depression. *Biol Psychiatry* 2003;53:649-659.

Fava M. New approaches to the treatment of refractory depression. *J Clin Psychiatry* 2000;61 (suppl 1):26-32.

Feldmesser-Reiss EE. The application of triiodothyronine in the treatment of mental disorders. *J Neurol Ment Disord* 1958;127:540-545.

Fernstrom JD, Wurtman RJ. Brain serotonin content: physiological regulation by plasma amino acids. *Science* 1972, 17:414-416.

Ferreri M, Lavergne F, Berlin I, Payan C, Puech AJ. Benefits from mianserine augmentation of fluoxetine in patients with major depression non-responders to fluoxetine alone. *Acta Psychiatr Scand* 2001;103:66-72.

Fišar Z. Afektivní poruchy. In: Fišar Z., Jiráček R.: *Vybrané kapitoly z biologické psychiatrie*. Praha. Grada, 2001: 210-238.

Fišar Z. *Biochemické hypotézy afektivních poruch*. Galén, Praha, 1998, 103 stran.

Fišar Z., Anders M., Kališová L. Effect of Pharmacologically Selective Antidepressants on Serotonin Uptake in Rat Platelets. *Gen Physiol Biophys* 2005; 24: 113-128.

Fountoulakis KN, Iacovides A, Grammaticos P, St Kaprinis G, Bech P. Thyroid function in clinical subtypes of major depression: an exploratory study. *BMC Psychiatry* 2004; 4: 6.

Franklyn J.A., Betteridge J., Daykin J., Holder R., Oates G.D., Parle J.V., Lilley J., Heath D.A., Sheppard M.C.: Long-term Thyroxine Treatment and Bone Mineral Density. *Lancet* 1992; 340: 9-13.

Friedman Y, Bacchus R, Joffe RT, Nobrega JN. Acute Stress Increases Thyroid Hormone Levels in Rat Brain. *Biol Psychiatry* 1999; 45: 234-237.

Galton VA, St Germain DL, Whittemore S. Cellular uptake of 3,5,3'-triiodothyronine and thyroxine by red blood and thymus cells. *Endocrinology* 1996, 118:1918-23.

Gold MS, Pottash ALC, Extein I, Martin DM, Howard E, Mueller EA, Sweeney DR. The TRH test in the diagnosis of major and minor depression. *Psychoneuroendocrinol* 1981;6:159-69.

Greenspan FS, Baxter JD. *Endocrinology*, 4th edition. Norwalk: Appleton and Lange, 1994, 811 pp.

Guelfi JD, Ansseau M, Timmerman L, Korsgaard S, the Mirtazapine-Venlafaxine study group. Mirtazapine versus venlafaxine in hospitalized severely depressed patients with melancholic features. *J Clin psychopharmacol* 2001;21:425-431.

Gur E, Lerer B, Newman ME. Chronic clomipramine and triiodothyronine increase serotonin levels in rat frontal cortex in vivo: relationship to serotonin autoreceptor activity. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 81-87.

Gyulai L, Bauer M, Garcia-Espana F, Hierholzer J, Baumgarten A, Berghofer A, Whybrow PC. Bone mineral density in pre- and post-menopausal women with affective disorder treated with long-term L-thyroxine augmentation. *J Affect Disord* 2001;66:185-91.

Gyulai L, Bauer MS, Younkin S, Rubin L, Attie M, Whybrow P. Bone Mineral Density and L-Thyroxine Treatment in Rapidly Cycling Bipolar Disorder. *Biol Psychiatry* 1997;41:503-506.

Hamilton MA. A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1960; 23: 56-62.

Heal DJ, Smith SL. The effects of acute and repeated administration of T3 to mice on 5-HT₁ and 5-HT₂ function in the brain and the influence on the actions of repeated electroconvulsive shock. *Neuropharmacology* 1988; 27:1239-1248.

Hickie I, Scott E, Mitchell P, Wilhelm K, Austin MP, Bennett B. Subcortical hyperintensities on magnetic resonance imaging: Clinical correlates and prognostic significance in patients with severe depression. *Biol Psychiatry* 1995;37:151-160.

Hillier AP. The binding of thyroid hormone to phospholipid membranes. *J Physiol* 1970; 211:585-97.

Holm AC, Jacquemin C. Membrane transport of L-triiodothyronine by human red human red cell ghosts. *Biochem Biophys Res Commun* 89: 1006-1017, 1979.

Horiuchi R, Johnson M, Willingham MC, Pastan I, Cheng SY. Affinity labeling of the plasma membrane 3,3',5-triiodo-L-thyronine receptor in GH3 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:5527-31.

Höschl C, Volšan O. Naše zkušenosti s podáváním hormonu spouštějícího tyreotropin (TRH) depresivním nemocným, *Čas. Lék. čes.*, 1979; 118, č.9, str. 261-264.

Höschl C. Poruchy nálady (afektivní poruchy). In: Höschl C, Libiger J, Švestka J a kol.: *Psychiatrie*. Praha, Tigis, spol s r.o. 2002: 409-454.

Höschl C. Vliv lithia na hodnotu TRH testu u depresivních nemocných, Československá psychiatrie 1981; 77(2): 116-119.

Iosifescu DV, Nierenberg AA, Mischoulon D, Perlis RH, Papakostas GI, Ryan JL, Alpert JE, Fava M. An open study of triiodothyronine augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors in treatment-resistant major depressive disorder. J Clin Psychiatry 2005 Aug;66(8):1038-42.

Irwin M. Psychoneuroimmunology of Depression: Clinical Implications. Brain, Behavior and Immunity 2002, 16: 1-16.

Jackson IM. The thyroid axis and depression. Thyroid 1998;8(10):951-956.

Jahn H, Schick M, Kiefer F, et al. Metyrapone as addictive treatment in major depression. A double-blind and placebo-controlled trial. Arch Gen Psychiatry 2004;61:1235-1244.

Jeanningros R, Serres F, Dassa D, Azorin JM, Grignon S. Red blood cell L-tryptophan uptake in depression: Kinetic analysis in untreated depressed patients and healthy subjects. Psychiatry Res 1996; 63:151-159.

Joffe R, Segal Z, Singer W. Change in Thyroid Hormone Levels Following Response to Cognitive Therapy for Major Depression. Am J Psych 1996; 153:3.

Joffe RT, Marriott M. Thyroid Hormone Levels and Recurrence of Major Depression. Am J Psychiatry 2000; 157: 1689-1691.

Joffe RT, Singer W, Levitt AJ, MacDonald C. A Placebo-Controlled Comparison of Lithium and Triiodothyronine Augmentation of Tricyclic Antidepressants in Unipolar Refractory Depression. Arch Gen Psychiatry 1993; 50:387-393.

Joffe T. Peripheral Thyroid Hormone Levels in Treatment Resistant Depression. Biol Psychiatry 1999; 45: 1053-1055.

Kastin AJ, Schalch DS, Ehrensing RH, Anderson MS. Improvement in mental depression with decreased thyrotropin response after administration of thyrotropin-releasing hormone. *Lancet* 1972;2:740-2.

Katzung BG. Základní a klinická farmakologie, Nakladatelství a vydavatelství H & H, 1994, str. 552 – 566.

Keller MB, Lavori PW, Rice J, Coryell W, Hirschfeld RM. The persistent risk of chronicity in recurrent episodes of nonbipolar major depressive disorder: A prospective follow-up. *Am J Psychiatry* 1986;143:24-28.

Keller MB, McCullough JP, Klein DN, et al. A comparison of nefazodone, the cognitive-behavior analysis system of psychotherapy and their combination for the treatment of chronic depression. *N Engl J Med* 2000;342:1462-1470.

Kirkegaard C, Faber J. Altered serum levels of thyroxine, triiodothyronines and diiodothyronines in endogenous depression. *Acta Endocrinol* 1981;96:199-207.

Kirkegaard C, Korner A, Faber J. Increased production of thyroxine and inappropriately elevated serum thyrotropin levels in endogenous depression. *Biol Psychiatry* 1990;27:472-476.

Kirkegaard C, Faber J. The Role of Thyroid hormones in Depression. *Eur J Endocrinol* 1998; 138: 1-9.

Klein N, Sacher J, Wallner H, Tauscher J, Kasper S. Therapy of treatment resistant depression: Focus on the management of TRD with atypical antipsychotics. *CNS Spectr.* 2004;9(11): 823-832.

Konig F, Von Hippel C, Petersdorf T. Thyroid Antibodies in Depressive Disorders. *Acta Med Austr* 1999; 26 (4): 126-8.

Kopeček M, Bareš M, Horáček J, Škrdlantová L. Repetitivní transkraniální magnetická stimulace. In: Seifertová D, Praško J, Hoschl C: Postupy v léčbě psychických poruch. Praha, Academia Medica Pragensis, 2004: 420-424.

Krenning E, Docter R, Bernard, et al. Biochim Biophys Acta 1981; 676, 314-320.

Landen M, Bjorling G, Agren H, Fahlen T. A randomised, double-blind, placebo-controlled trials of buspirone in combination with an SSRI in patients with treatment-refractory depression. J Clin Psychiatry 1998;59:664-668.

Leathwood PD. Tryptophan availability and serotonine synthesis. Proc Nutr Soc 1987; 46:143-156.

Leonard BE, Song C. Stres, imunitní systém a deprese. In: Základy psychoneuroimunologie. ČNPS a Sanofi synthelabo, Brno Artax, 2003: 80-98. Překlad z anglického originálu. Wiley and sons,ltd. Chichester, 2000.

Leština J, Libiger J. Farmakoterapie rezistentní deprese. ČS Psychiat., 91, 1995, No.4, p. 216-233.

Lifschytz T, Gur E, Lerer B, Newman ME Effects of triiodothyronine and fluoxetine on 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} autoreceptor activity in rat brain: regional differences. J Neurosci Methods 2004 Dec 30;140(1-2):133-9.

Linnoila M, Lamberg B-A, Potter WZ, Gold PW, Goodwin FK. High reverse T₃ levels in manic and unipolar depressed women. Psychiatry Res 1982;6:271-6.

Loose PT, Prange AJ, jun. Serum Thyrotropin Response to Thyrotropin-Releasing Hormone in Psychiatric Patients: A Review. Am J Psych 1982; 139:4, 405-414.

Maes M., libbrecht I., van Hunsel F, Campens D, Meltzer HY. Pindolol and mianserine augment the antidepressant activity of fluoxetine in hospitalized major depressed patients, including those with treatment resistance. J Clin Psychopharmacol 1999; 19:177-182.

Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response system. In Cytokines, Stress and Depression. Edited by Dantzer R, Wollmann EE, Yirmiya R. New York: Kluwer Academic/Plen Publishers, 1999: 25-46.

Marangell LB, Ketter TA, George MS, Pazzaglia PJ, Callahan AM, Perekh P, Andreason PJ, Horwitz B, Herscovitch P, Post RM. Inverse Relationship of Peripheral Thyrotropin-Stimulating Hormone levels to Brain Activity in Mood Disorders. Am J Psych 1997; 154:224-230.

Marangell LB, George MS, Callahan AM, et al. Effects of intrathecal thyrotropin-releasing hormone (protirelin) in refractory depressed patients. Arch Gen Psychiatry 1997;54:214-222.

Martin JL, Barbanj MJ, Schlaepfer TEW, Thompson E, Perez V, Kulisevsky J. Repetitive transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression. Systematic review and meta-analysis. Br J Psychiatry 2003;182: 480-491.

Mezinárodní klasifikace nemocí, 10. revize. Duševní poruchy a poruchy chování. Diagnostická kritéria pro výzkum. Praha: Psychiatrické centrum Praha. 1996; Zprávy č. 134:179

Montgomery SA, Asberg M. A New Depression Scale designed to be Sensitive to Change. Brit J Psychiatry 1979; 134: 382-389.

Moreau X, Azorin JM, Maurel M, Jeanningros R. Increase in red blood cell triiodothyronine uptake in untreated unipolar major depressed patients compared to healthy volunteers. Prog Neuropsychopharmacol 1998;22:293-310.

Moreau X, Lejeune PJ, Jeanningros R. Kinetics of red blood cell T3 uptake in hypothyroidism with or without hormonal replacement, in rat. J Endocrinol Invest 1999; 22(4): 257-61.

Mourek J, Pokorný J. Struktura a funkce membrány nervových buněk. Čes a Slov Psychiat 2005; 101 (3):155-159.

Murck H, Song C, Horrobin DF, et al. Ethyl-eicosapentaenoate and dexamethasone resistance in therapy-refractory depression. Int J Neuropsychopharmacol 2004;7:341-349.

Nelsen MR, Dunner DL. Clinical and differential diagnostic aspects of treatment-resistant depression. J Psychiatr Res 1995;29:43-50.

Nelson JC, Mazure CM, Bowers MB, Jatlow PI. A preliminary, open study of the combination of fluoxetine and desipramine for rapid treatment of major depression. Arch Gen Psychiatry 1991;48:303-307.

Nierenberg AA, Amsterdam JD. Treatment-resistant depression: definition and treatment approaches. J Clin Psychiatry 1990; 51 (6, suppl): 39-47

Nunes EV, Deliyannides D, Donovan S, McGrath PJ. The management of treatment resistance in depressed patients with substance use disorders. Psychiatr Clin North Am 1996;19:311-327.

Obata T, Kitagawa S, Gong QH, Pastan I, Cheng SY,: Thyroid hormone down-regulates p55, a thyroid hormone binding protein that is homologous to protein disulfide isomerase and the beta-subunit of prolyl-4-hydroxylase. J Biol Chem 1988; 263:782-785.

Okuno Y, Nakayasu N. Thyroid function and therapeutic efficacy of thyroxine in depression. Jpn J Psychiatry Neurol 1988;42:763-770.

Oslin DW, Datto CJ, Kallan MJ, Katz IR, Edell WS, TenHave T. Association between medical comorbidity and treatment outcomes in late-life depression. J Am Geriatr Soc, 2002; 50:823-828.

Osty J, Jego L, Francon J, Blondeau JP. Characterization of triiodothyronine transport and accumulation in rat erythrocytes *Endocrinology* 1988; 123:2303-2311.

Osty J, Valensi P, Samson M, Francon J, Blondeau JP. Transport of thyroid hormones by human erythrocytes: Kinetic characterization in adults and newborns. *J Clin Endocrinol Met* 1990; 71:1589-1594.

Paykel ES, Scott J, Teasdale JD, et al. Prevention of relapse in residual depression by cognitive therapy. *Arch Gen Psychiatry* 1999;56:829-835.

Poirier MF, Boyer P. Venlafaxine and paroxetine in treatment-resistant depression. Double-blind randomised comparison. *Br J Psychiatry* 1999; 175:12-16.

Pop VJ, Maartens LH, Leusink G, van Son MJ, Knottnerus AA, Ward AM, Metcalfe R, Weetman A. Are Autoimmune Thyroid Dysfunction and Depression Related? *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 3194-3197.

Pope HG Jr, Cohane GH, Kanayama G, Siegel AJ, Hudson JI. Testosterone gel supplementation for men with refractory depression: a randomized, placebo-controlled trial. *Am J Psychiatry* 2003; 160:105-111.

Prange AJ Jr, Lara PP, Wilson IC, et al. Effects of thyrotropin-releasing hormone in depression. *Lancet* 1972;2:999-1002.

Prange AJ, Wilson IC, Rabon AM et al. Enhancement of Imipramine Antidepressant Activity by Thyroid Hormone. *Am J Psych* 1969; 126:457-469.

Prudic J, Haskett RF, Mulsant B, et al. Resistance to antidepressant medications and short-term clinical response to ECT. *Am J Psychiatry* 1996;153:985-992.

Rappaport MC, Canuso C, Loecher A, Lasser R, Gharabawi G. Preliminary results from the ARISe-RD trial. Poster at annual meeting of the APA, 2003. San Francisco.

Rosenberg GR. A kinetic analysis of L-tryptophan transport in human red blood cells. *Biochim Biophys Acta* 1981; 649:262-268.

Rosenberg R, Young JD, Ellory JO. L-tryptophan transport in human red blood cells *Biochim Biophys Acta* 1980; 598:375-381.

Rudas S, Schmitz M, Pichler P, Baumgarten A. Treatment of Refractory Chronic Depression and Dysthymia with High-Dose Thyroxine. *Biol Psychiatry* 1999; 45:229-233.

Sackheim HA, Ruh AJ, George MS, et al. Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment – resistant depression: efficacy, side-effects, and predictors of outcome. *Neuropsychopharmacol* 2001; 25:713-728.

Samson M, Osty J, Blondeau JP. Identification by photoaffinity labeling of a membrane thyroid hormone binding protein associated with the triiodothyronine transport system in rat erythrocytes *Endocrinology* 1993; 132:2470-2476.

Samson M, Osty J, Francon J, Blondeau JP. Triiodothyronine binding sites in the rat erythrocyte membrane: involvement in triiodothyronine transport and relation to the tryptophan transport system T. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1108:91-98.

Samson M, Osty J, Thibout H, Blondeau JP. Solubilization, reconstitution and molecular properties of the triiodothyronine transport protein from rat erythrocyte membranes. *Eur J Endocrinol* 1996; 134:660-8.

Sattin A. A heuristic model of mental depression derived from basic and applied research on thyrotropin-releasing hormone. *Thyroid* 1998;8:957-962.

Shah PJ, Glabus MF, Goodwin GM, Ebmeier KP. Chronic, treatment –resistant depression and right fronto-striatal atrophy. *Br J Psychiatry* 2002;180:434-440.

Shelton RC, Tollefson GD, Tohen M, et al. A novel augmentation strategy for treating resistant major depression. *Am J Psychiatry* 2001;158:131-134.

Schmauss M, Kapfhammer HP, Meyr P, Hoff P. Combined MAO-inhibitor and TCA treatment in therapy resistant depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1988; 12: 523-532.

Smith D, Demster C, Glanville J, Freemantle N, Anderson I. Efficacy and tolerability of venlafaxine compared with selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants: a meta-analysis. *Br J Psychiatry* 2002;180:396-404.

Sokolov STH, Joffe RT. Practical guideline for combination drug therapy of treatment-resistant depression. *CNS drugs* 1995; 4(5): 341-350.

Souery D, Amsterdam J, de Montigny C, et al. Treatment resistant depression: methodological overview and operational criteria. *Eur Neuropsychopharmacol*. 1999; 9: 83-91.

Stancer HC, Persad E. Treatment of Intractable Rapid - Cycling Manic – Depressive Disorder With Levothyroxine. *Arch Gen Psychiatry* 1982; 39: 311–312.

Steffens DC, Conway CR, Dombek CB, Wagner HR, Tupler LA, Weiner RD. Severity of subcortical gray matter hyperintensity predicts ECT response in geriatric depression. *J ECT* 2001;17:45-49.

Stein D, Avni J. Thyroid hormones in the treatment of affective disorders. *Acta Psychiatr Scand* 1988;77:623-636.

Stern RA, Nevels ChT, Shelhorse ME, Prohaska ML, Mason GA, Prange A jun. Antidepressant and memory Effects of Combined Thyroid Hormone Treatment nad Electroconvulsive Therapy: Preliminary Findings. *Biol. Psychiatry* 1991; 30:623-627.

Stoll AL, Pilay SS, Diamond L, et al. Methylphenidate augmentation of serotonin selective reuptake inhibitors: a case series. *J Clin Psychiatry* 1996;57:72-76.

Styra R, Joffe R, Singer W. Hyperthyroxinemia in Major Affective Disorders. *Acta Psychiatr Scand* 1991; 83: 61-63.

Su KP, Huang SY, Chiu CC, Shen WW. Omega-3 fatty acids in major depressive disorder. A preliminary double-blind, placebo-controlled trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 2004;7:341-349.

Sullivan PF, Wilson DA, Mulder RT, Joyce PR. The Hypothalamic-pituitary-thyroid Axis in Major Depression. *Acta Psych Scand* 1997; 95:370-378.

Sullivan GM, Hatterer JA, Herbert J, Chen X, Roose SP, Attia E, Mann J, Marangell LB, Goetz RR, Gorman JM. Low Levels of Transthyretin in the CSF of Depressed Patients. *Am J Psychiatry* 1999; 156:710-715.

Szuba MP, Baxter LR Jr, Fairbanks LA, Guze BH, Schwartz JM. Effects of partial sleep deprivation on the diurnal variation of mood and motor activity in major depression. *Biol Psychiatry* 1991;30:817-829.

Švestka J. *Psychofarmaka v klinické praxi.* Grada, 1995, 252 stran.

Taylor D. Selective serotonin reuptake inhibitors and tricyclic antidepressants in combination. Interactions and therapeutic uses. *Br J Psychiatry* 1995;165: 575-580.

Thase ME. Therapeutic Alternatives for Difficult to Treat Depression: A Narrative Review of the State of the Evidence. *CNS Spectr* 2004; 9(11):808-821.

Thase ME, Howland RH, Friedman ES. Treating antidepressant nonresponders with augmentation strategies: an overview. *J Clin Psychiatry* 1998;59 (suppl 5):5-12.

Thase ME, Kupfer DJ, Jarret DB. Treatment of imipramine-resistant recurrent depression. I: an open clinical trial of adjunctive L-triiodothyronine. *J Clin Psychiatry* 1989; 50:385-388.

Thase ME, Rush AJ, Howland RH, Kornstein SG, Kocsis JH, Gelenberg AJ et al: Double-blind switch study of imipramine or sertraline treatment of antidepressant-resistant chronic depression. *Arch gen Psychiatry* 2002; 59:233-239.

Thase ME, Schutte AJ, van der Flier S, Heukels A. Remission with mirtazapine versus SSRIs: a meta-analysis on data of more than 2500 depressed patients treated in randomised controlled trials. *J Affect Disord* 2004;78(suppl 1):S136.

Thase ME. The role of Axis II comorbidity in the management of patients with treatment resistant depression. *Psychiatr Clin North Am* 1996;19:287-309.

Vevera J, Fišar Z, Stárková L, et al. Cholesterol-lowering therapy evokes time-limited changes in serotonergic transmission. *Psychiatry Res* 2005;133(2-3):197-203.

Wilson JD, Foster DW. Williams Textbook of endocrinology – 8th edition. Philadelphia, Edited W.B.Saunders Company, 2002, 1005pp.

Wolkowitz OM, Reus VI. Psychoneuroendocrine aspects of treatment-resistant mood disorders. In: Amsterdam JD, Hornig M, Niereberg AA, Treatment resistant mood disorders. New York, Cambridge Press 2001, 49-79.

Wurtman RJ, Hefti F, Melamed E. Precursor control neurotransmitter synthesis. *Pharmacol Rev* 1981; 32:315-335.

Yamauchi K, Horiuchi R, Takikawa H. Uptake of 3,5,3'-triiodothyronine in human erythrocytes. *J Endocrinol* 1989; 121:585-591.

Zhang W, Perry KW, Wong DT, et al. Synergistic effects of olanzapine nad other antipsychotics agents in combination with fluoxetine on norepinephrine and dopamine release in rat prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 2000;23:250-262.

Zhou Y, Samson M, Francon J, Blondeau JP. Thyroid hormone concentrative uptake in rat erythrocytes: Involvement of the tryptophan transport systém T in

countertransport of triiodothyronine and aromatic amino acids. *Biochem J* 1992; 281:81-86.

Zhou Y, Samson M, Osty J, Francon J, Blondeau JP. Evidence for a close link between the thyroid hormone transport system and the aromatic amino acid transport system T in erythrocytes. *J Biol Chem* 1990; 265:17000-17004.

Zoung SN, Teff KL. Tryptophan availability, 5-HT synthesis and 5-HT function. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psych* 1989; 13:373-379.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

5-HIAA – 5-hydroxyindoloctová kyselina

5-HT – 5-hydroxytryptamin, serotonin

ACTH – adrenokortikotropní hormon

BDI – Beck Depression Inventory, Beckova sebesuzovací škála deprese

BDNF – brain derived neurotrophic factor, mozkový odvozený neurotrofní faktor

BP – bipolární

cAMP – cyklický adenosinmonofosfát

CRF – faktor uvolňující kortikotropin

DA – dopamin

DS – dvojitě slepá

DSM IV – Diagnostický a statistický manuál duševních poruch, verze IV

F – žena (female)

FSH – folikuly stimulující hormon

HAMA – Hamiltonova hodnotící škála deprese

hCG – choriogonadotropin

HVA – homovanilová kyselina

MAO – inhibitory monoaminoxidázy

K_m – zdánlivá Michaelisova konstanta

LH – luteinizační hormon

M- muž (male)

MADRS – Škála hodnocení deprese Montgomeryho a Aspergerové

MHPG – 3-metoxy-4-hydroxyfenylglykol

MKN 10 – Mezinárodní klasifikace nemocí, verze 10

NA – noradrenalin

SDS – Zungova sebehodnotící škála deprese

SSRI – antidepressiva inhibitory zpětného vychytávání serotoninu

TBG – thyroid binding globulin, globulin vázající thyroidní hormony

TCA – tricyklická antidepressiva

TRD – treatment resistant depression, deprese neodpovídající na léčbu

TRH – hormon uvolňující thyrotropin; Thyreoliberin

TSH – hormon stimulující uvolnění thyrotropinu, Thyrotropin

UP – unipolární

V_{max} – maximální rychlost transportu do buněk

Chtěla bych poděkovat všem, kteří mě na školicím pracovišti obklopovali a pomáhali mi nejen při vzniku této práce.

Děkuji svému školiteli doc. MUDr. Ivo Pacltovi, CSc. za odborné vedení v průběhu mého postgraduálního studia.

Velký dík patří odbornému konzultantovi RNDr. Zdeňkovi Fišarovi, CSc. za neocenitelnou všestrannou pomoc při realizaci experimentální části mé výzkumné práce.

V Praze 31.10.2005

