

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA FYZIOLOGIE ŽIVOČICHŮ A ČLOVĚKA
ODDĚLENÍ NEUROBIOLOGIE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

**CHOVÁNÍ LABORATORNÍCH POTKANŮ V ANIMÁLNÍM MODELU
SCHIZOFRENII PODOBNÉHO CHOVÁNÍ NAVOZENÉM APLIKACÍ
LÁTKY MK-801**

PRAHA 2007

Autorka: Daniela Činková

Vedoucí práce: RNDr. Aleš Stuchlík, PhD. z FgÚ AV ČR

Garant na fakultě: RNDr. Jan Moravec, PhD.

Oponent: MUDr. Jakub Otáhal, PhD. z FgÚ AV ČR

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma „Chování laboratorních potkanů v animálním modelu schizofrenii podobného chování navozeném aplikací látky MK-801“ vypracovala samostatně, experimentální část v Laboratoři neurofyziologie paměti ve Fyziologickém ústavu akademie věd České Republiky, a použité citace jsou uvedeny i s příslušnými prameny.

V Praze dne 8.4.2007



.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji mému školiteli RNDr. Alešovi Stuchlíkovi, PhD. za odborné vedení a přátelský přístup během studia a při tvorbě diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat ostatním kolegům z oddělení neurofyziologie paměti, zejména RNDr. Karlovi Valešovi, PhD. a Michaele Fialové za spolupráci a pomoc při experimentech.

**Chování laboratorních potkanů v animálním modelu schizofrenii podobného
chování navozeném aplikací látky MK-801**

Anotace

Experimentální modelování schizofrenii podobného chování pomocí aplikace nekompetitivního antagonisty NMDA receptorů, látky MK-801, je v současnosti využíváno jako validní model psychotických onemocnění. Diplomová práce se zabývá účinky látky MK-801 na pohybovou aktivitu a prostorové chování, za použití úlohy aktivního vyhýbání se místu.

**Behaviour of rats in an animal model of schizophrenia-like behaviour
induced by MK-801**

Annotation

Experimental modelling of schizophrenia-like behaviour induced by MK-801, a noncompetitive antagonist of NMDA receptors, was recently designed as a valid model of psychosis. Graduation thesis will deal with influence of MK-801 on locomotor activity and spatial behaviour in active allothetic place avoidance, a spatial cognition task.

OBSAH:

Úvod.....	8
1. kapitola – Prostorové chování potkanů.....	9
1.1 Behaviorální úlohy jako metoda ke studiu prostorové orientace.....	9
1.2 Úloha aktivního vyhýbání se místu (AAPA).....	12
2. kapitola – Schizofrenie.....	14
2.1 Stručně o nemoci.....	14
2.2 Poruchy neuropřenašečových systémů.....	17
2.3 Schizofrenie jako porucha glutamátergní transmise.....	18
3. kapitola – Experimentální modely schizofrenii podobného chování.....	20
3.1 Význam animálních modelů.....	20
3.2 Validita modelů.....	24
3.3 Model schizofrenii podobného chování navozený blokádou NMDA receptorů.....	26
3.3.1 Fencyklidin.....	30
3.3.2 Ketamin.....	30
3.3.3 MK-801.....	31
4. kapitola – Mechanismy působení antipsychotických látek.....	32
4.1 Rozdělení antipsychotik.....	32
4.2 Dopaminergní modulace.....	33
4.3 Serotonergní modulace.....	34
4.4 Kombinované modulace.....	35
4.5 Neurobiologie a neuromodulace antipsychotik.....	35
5. kapitola – Cíle diplomové práce.....	39
5.1 Cíle diplomové práce.....	39
5.2 Ovlivnění kognitivních funkcí systémovou aplikací MK-801 jako animální model schizofrenie.....	39

5.3 Vliv antipsychotických látek na chování laboratorních zvířat v úloze AAPA.....	39
6. kapitola – Experimentální část.....	41
6.1 Materiál a metodika.....	41
6.1.1 Zvířata.....	41
6.1.2 Chemikálie a farmakologické manipulace.....	41
6.1.3 Behaviorální testování.....	42
6.1.4 Rozvržení experimentálních skupin.....	44
6.1.5 Hodnocené parametry.....	45
6.1.6 Analýza dat a statistika.....	45
7. kapitola – Výsledky.....	47
7.1 Vliv MK-801 na lokomoční aktivitu v úloze AAPA.....	47
7.2 Vliv MK-801 na počet vstupů do zakázané oblasti v úloze AAPA.....	49
7.3 Vliv MK-801 na maximální čas vyhýbání v úloze AAPA.....	51
7.4 Vliv antipsychotických látek na lokomoci v úloze AAPA.....	53
7.5 Vliv antipsychotických látek na počet vstupů do zakázané oblasti.....	55
7.6 Vliv antipsychotických látek na maximální čas vyhýbání.....	57
8. kapitola – Diskuse.....	59
8.1 Vliv MK-801 na lokomoci a prostorové chování.....	59
8.2 Porovnání účinku antipsychotik v úloze AAPA.....	61
9. kapitola – Závěr.....	64
Seznam literatury.....	65

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AD – Alzheimerova nemoc

AMPA – α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionát

ANOVA – analýza rozptylu

BDNF – brain derived neurotrophic factor

CA – cornu Ammonis, Ammonnův roh

DA – dopamin

DAT-KO – dopaminový transporter knock-out

DMT – N, N-dimetyltriptamin

EPS – extrapyramídový syndrom

5-HT – 5-hydroxytryptamin (serotonin)

LTP – long-term potentiation (dlouhodobá potenciace)

LSD – dietylamilid kyseliny lysergové

MAM – methylazoxymetanol acetát

MK-801 – dizocilpin

MPFC – mediální prefrontální kortex

NGF – nerve growth factor (nervový růstový faktor)

NMDA – N-methyl D-asparát

PCP – fencyklidin

PFC – prefrontální kortex

PPI – prepulzní inhibice úlekové reakce

SEM – směrodatná odchylka od průměru

TTX – tetrodotoxin

Úvod

Schizofrenie je závažné duševní onemocnění, snižující kvalitu života. Mezi symptomy schizofrenie se řadí i kognitivní deficit. Správné fungování kognitivních funkcí je důležité pro naši orientaci v místě a čase. Umožňuje nám vnímání minulosti, přítomnosti, budoucnosti a tudíž kontakt s realitou. Pracovní paměť je nezbytná k řešení každodenních úloh a situací. Zpomalení nebo chybné zpracování a uspořádání informací a myšlenek může vést k dysfunkcím informačního processingu. U pacientů postižených schizofrenním onemocněním se projevuje kognitivní deficit především v poruchách paměti, pozornosti a exekutivních funkcí, které lze zlepšit podáváním antipsychotických látek. Hlavními deficity paměti u schizofrenií postižených pacientů jsou poruchy v učení a vybavení. Hlavním tématem mojí diplomové práce je modelování schizofrenii podobného chování a srovnání účinků antipsychotických látek s důrazem na ovlivnění kognitivního deficitu. Přestože je schizofrenie typicky lidské onemocnění, některé projevy se dají poměrně úspěšně modelovat i u zvířat.

Celá práce je rozdělena na dvě části – teoretickou a experimentální. Teoretická část vysvětuje základní pojmy související s využitím animálních modelů používaných v neuropsychiatrickém výzkumu. Jejím úkolem je popsat a vysvětlit ty aspekty animálních modelů, které jsou důležité pro druhou část práce. Experimentální část práce se zabývá vlivem aplikace látky MK-801 především na kognitivní funkce laboratorních zvířat a možností jejich ovlivnění pomocí antipsychotických látek. Prospěšnost této práce spatřuji v možnosti hlubšího porozumění animálnímu modelu schizofrenii podobného chování navozeném aplikací látky MK-801 a zároveň ke klinicky relevantnímu ověření účinků antipsychotických látek.

1. kapitola – Prostorové chování potkanů

1.1 Behaviorální úlohy jako metoda ke studiu prostorové orientace

Prostor je všudy přítomný element, který nás obklopuje, ve kterém trávíme všechn svůj čas, ve kterém se pohybujeme a snažíme se určovat naši vlastní polohu vůči ostatním subjektům. První zmínky o studiu prostoru se objevovaly už ve starověku u Aristotela (384-322 př.n.l.), který považoval prostor za spojité plénum vyplněné hmotou a povrch každého objektu jakoby „vlévající“ se do svého okolí. O dvě tisíciletí později přišel anglický fyzik Isaac Newton (1643 - 1727) s myšlenkou „absolutního prostoru“, který má existovat nezávisle na jakékoliv živé bytosti, a který není přístupný lidskému vnímání. Na rozvoj kognitivních věd měly také velký vliv experimenty se psy Ivana Petroviče Pavlova (1849 - 1936), ve kterých formuloval základní principy podmíněného a nepodmíněného reflexu vedoucího k podobné odpovědi. John B. Watson (1878 - 1958) prosazoval přístup označovaný jako behaviorismus. Behaviorismus klade důraz na pavlovovské podmiňování, veškeré chování považuje za naučené a zkoumání vědomí a vnitřních mentálních procesů považuje za zbytečné. Kritikem tohoto přístupu byl Edward Chace Tolman (1886 - 1959), který sice uznával studium chování jako nejhodnější psychologickou metodu, ale důraz kladl i na vnitřní procesy (myšlení), které mohou behaviorální odpověď ovlivnit.

Tolman zavedl **koncept kognitivní mapy**. Kognitivní mapa obsahuje informace o prostorovém rozvržení prostředí, o vzájemných prostorových vztazích mezi různými orientačními body a vztazích mezi nimi a subjektem. Navigace trasou, která využívá přesné sekvence na sebe navazujících instrukcí, může být použita pouze pro jedinou trasu. Naopak navigace ke skrytým cílům, pomocí orientace kognitivní mapou je velmi flexibilní. Hypotéza o existenci kognitivních map byla později podpořena objevem neuronů v hipokampální formaci potkanů, které mají tzv. lokálně-specifickou aktivitu, tzn. že generují akční potenciály jenom v případě, že se zvíře nachází v určitém místě experimentálního prostoru, tzv. aktivním poli neuronu (O'Keefe a Dostrovsky, 1971). Neurony směru hlavy generují vzruchy pouze pokud se zvíře dívá určitým směrem – tzv. směr preference bez ohledu na to, ve kterém místě experimentálního prostoru se právě nachází. Společně s později objevenými neuronami směru hlavy mohou být místní neurony považovány za nervový substrát

kognitivní mapy (Taube, 1998). Jak místní neurony, tak neurony směru hlavy jsou závislé na externích vizuálních orientačních bodech a jakákoliv experimentální manipulace s nimi, způsobí posun aktivních polí a směr u preference neuronů.

Informace použité při tvorbě kognitivních map mohou přicházet do centrální nervové soustavy ze dvou různých zdrojů. **Allothetická navigace** integruje informace o prostorových vztazích mezi orientačními body, které se nacházejí v blízkém i vzdálenějším okolí zvířete. Naopak **idiothetická navigace** zahrnuje zpracování informací generovaných během aktivní či pasivní lokomoce subjektu či informací přímo závislých na této lokomoci (Mittelstaedt a Mittelstaedt, 1980).

Allothetická navigace je prostorové chování vycházející výlučně ze smyslových informací přicházejících z vnějšího prostředí, např. zraková, čichová, akustická atd. Příkladem allothetické orientace je navigace v Morrisově vodním bludišti, ve kterém jsou potkani trénováni hledat cestu ke skrytým cílům z jakéhokoliv místa bazénu na základě informací o poloze okolních orientačních bodů a podle jejich konfigurace určit svoji polohu vůči těmto orientačním bodům a cíli.

Idiothetická orientace zahrnuje zpracování signálu generovaného při pasivním a aktivním pohybu s informací přímo související s tímto pohybem. Zdroji idiothetické informace jsou vestibulární polokruhovité kanálky registrující úhlová zrychlení pohybu hlavy, vestibulární otholitické receptory lokalizované v sacculu a utriculu vestibulárního aparátu a registrující lineární zrychlení pohybu hlavy, proprioreceptory svalových, šlachových a kloubních receptorů a jejich integrace s eferentními motorickými kopiemi. Součástí idiothetické orientace tedy mohou být i některé externí signály např. optický či hmatový tok (Mittelstaedt, 2000).

Integrace dráhy (path integration) je proces zaznamenávání informace generované během aktivního a pasivního pohybu subjektu a integrování této informace s cílem obdržet výsledný vektor (*homing vector*), který zavede subjekt z kteréhokoliv místa přímo zpět na výchozí místo jeho explorační trajektorie (Alyan a Jander, 1994).

Radiální bludiště bylo navrženo jako základ pro testování prostorové paměti hlodavců v sedmdesátých letech dvacátého století. Bylo vytvořeno pro testování různých forem paměti za použití vizuálních a jiných senzorických orientačních bodů využitelných pro řešení dané úlohy. Typicky se bludiště skládá z centrální kruhovité platformy, ke které je připojeno několik radiálních ramen. Počet ramen je nejčastěji osm, ačkoliv čtyřramenná či dvanáctiramenná bludiště jsou také používána. V prostorových testech jsou potravně deprivovaní potkani pokládáni na centrální platformu a je jim dovoleno navštěvovat jednotlivá ramena, na jejichž konci je potravová odměna. Po zkonzumování odměny se zvířata vrací na centrální platformu a mohou si vybrat další rameno, do kterého vstoupí. Pokud je testována pracovní paměť, obsahují na začátku každého sezení všechna ramena potravu a optimálním řešením potkana je navštívit postupně všechna ramena a zároveň každé navštívit pouze jednou. Radiální bludiště může být rovněž využito pro testování dlouhodobé referenční paměti. V tomto případě opakovaných sezení je odměna pouze v určitých ramenech a zvíře má za úkol navštěvovat pouze ramena s odměnou a vyhnout se prázdným ramenům.

Morrisovo vodní bludiště (MWM) je kruhovitý bazén naplněný vodou, ve kterém je umístěna malá kruhovitá platforma, sloužící jako ostrůvek, lokalizovaná ve středu jednoho kvadrantu bazénu. Ostrůvek může být těsně pod hladinou a proto není přímo vidět. Zvíře ho najde jen pokud k němu doplave. V jiné variantě pokusu je ostrůvek vynořený nad hladinou a tudíž přímo viditelný. Potkani jsou vypouštěni z různých míst na periferii bazénu a mají za úkol doplavat k ostrůvku a vylézt na něj. Pozice ostrůvku může být konstantní po celou dobu tréninku nebo se může měnit od plavby k plavbě. Potkani hledající skrytý ostrůvek jsou jej schopni nalézt za stejně krátkou dobu, pokud je jeho poloha konstantní, i když jsou vypouštěni z různých míst na okraji bazénu (Morris, 1981). Pokud se poloha skrytého ostrůvku náhodně změní mezi plavbami, jedinou strategií, jak ostrůvek nalézt, je náhodné hledání a latence od vypuštění potkana k nalezení ostrůvku je podstatně delší (Stuchlík, 2003).

Úloha preference místa je úlohou, ve které jsou potkani trénováni pohybovat se po aréně a sbírat potravinové pelety, které padají na arénu pouze pokud potkan navštíví určité předem definované místo na aréně tzv. spouštěcí místo. Trajektorie dobře trénovaného potkana se zpravidla skládá z relativně

přímých úseků, kdy potkan po zkonzumování spadlé pelety běží na spouštěcí místo, a z úseků, kde spadlou potravu vyhledává. Metoda preference místa byla úspěšně použita při studiu místních neuronů, kdy bylo zjištěno, že většina aktivních polí místních buněk ustavených na stabilní aréně se rozpadne či změní svoji polohu pokud se zvíře pohybuje po rotující aréně náhodně. Pokud je však předtrénováno vykonávat úlohu preference místa a toto místo je stabilní v koordinátovém systému místnosti, není většina aktivních polí místních neuronů rotací ovlivněna. Úloha preference místa jaksi „uzamkne“ aktivní pole místních neuronů v souřadnicovém systému místnosti (Bureš et al., 1998).

1.2 Úloha aktivního vyhýbání se místu (AAPA)

Ve výzkumu mechanismu prostorového chování je možné použít behaviorální metody založené na negativní motivaci subjektu – například vyhýbání se místu. Úlohy vyhýbání se místu mají dvě základní modifikace – aktivní vyhýbání se místu a pasivní vyhýbání se místu.

Novou metodou použitelnou pro výzkum allotheticke prostorové orientace je úloha aktivního vyhýbání se místu (Cimadevilla et al., 2000b). Při aktivním vyhýbání se místu se musí potkan aktivně pohybovat, aby se vyhnul potrestání. Na kruhovité aréně je vymezena zakázaná oblast, která je definována v souřadnicovém systému místnosti. Po vstupu do této oblasti je zvíře potrestáno mírným elektrickým šokem. Pokud by se potkan aktivně nepohyboval, byl by opakovaně zavážen do zakázané oblasti postupným otáčením arény. Zvíře se však brzy naučí aktivně se pohybovat proti směru rotace a kompenzovat tak pasivní pohyb daný otáčející se arénou. Dočasná inaktivace hipokampu mikroinjekcí tetrodotoxinu narušuje orientaci v této prostorové úloze (Cimadevilla et al., 2000a), podobně jako je tomu v allotheticke verzi Morrisova vodního bludiště (Morris, 1981). Tato úloha je citlivá i k jednostranné hipokampální inaktivaci (Cimadevilla et al., 2001). Úloha aktivního vyhýbání se místu se používá ve dvou modifikacích. Při první jsou potkani umístěni na rotující aréně a mají za úkol se pouze vyhýbat zakázané oblasti definované v souřadnicích místnosti. Ve druhé potravně deprivovaní potkani vykonávají výše zmíněnou úlohu a ještě k tomu sbírají pelety dopadající na arénu.

V úloze pasivního vyhýbání se místu má potkan za úkol potlačit své přirozené chování, např. explorační aktivitu, aby se vyhnul potrestání, ale nevyžaduje po zvířeti, aby se aktivně pohybovalo po aréně pouze s cílem vyhnout se zakázané oblasti. Namísto toho jsou potravově deprivovaní potkani trénováni se po aréně pohybovat a sbírat pelety a zároveň se vyhýbat místu definovanému v určitém souřadnicovém systému. Zakázané místo může být definováno v souřadnicovém systému mítnosti, podobně jako u allothetickeho aktivního vyhýbání se místu, ale také v souřadnicovém systému arény.

2. kapitola – Schizofrenie

2.1 Stručně o nemoci

Schizofrenie je závažné duševní onemocnění. Pojem schizofrenie je odvozen z řečtiny, kdy „schizo“ znamená štěpit a „phren“ znamená rozum a myšlení. Název zavedl německý psychiatr Eugen Bleuler (1857-1939) na počátku 20. století, ale první zmínky o tomto onemocnění se objevují již v antických textech.

Schizofrenii provází změny myšlení a vnímání reality. Projevy této duševní poruchy jsou nejednotné. Schizofrenie je přesto definována pomocí syndromů, které jsou shrnutý v diagnostických manuálech DSM IV a ICD 10. Nejčastější rozdělení symptomů u schizofrenie je na pozitivní a negativní symptomy. Pozitivní symptomy (halucinace, bludy, stereotypie) zhoršují běžné funkce mozku a negativní symptomy (anhedonie, sociální a citové stažení) svědčí pro ztrátu normální funkce mozku. Negativní symptomy nejsou specifické jen pro schizofrenii, ale jsou přítomny i u jiných, například organických poruch, především po poškození frontálních laloků (Carlsson, 2004). Je pravděpodobné, že pozitivní a negativní symptomy jsou na sobě nezávislé. Pozitivní symptomy zahrnují nadměrnou aktivitu mesolimbického dopaminového systému. Naopak negativní symptomy jsou způsobeny spíše vývojovými a degenerativními procesy, které zhoršují fyziologické funkce určité oblasti mozku, např. prefrontální kůry (Carlsson, 2004). Mezi symptomy schizofrenie se řadí i kognitivní deficit, který zahrnuje problémy s orientovanou pozorností, vizuálním a verbálním vybavováním, pracovní pamětí a exekutivními funkcemi. U některých pacientů se schizofrenií se vyskytuje kognitivní deficit v celém průběhu onemocnění (Heaton et al., 1994).

Často se objevují úzkost, bludy a halucinace. U pacientů se schizofrenií dochází k celkovému úpadku osobnosti. Pacient může být vztahovačný, neustále pronásledovaný bludy a smyšlenkami, mluví si pro sebe, vytváří umělý svět. K paranoidním představám se přidružují poruchy pohybu a vnímání. Citová otupělost, jindy extrémní přecitlivělost je doprovázená tvorbou neologismů a nesmyslných sousloví. Schizofrenik je velmi plachý a neustále ztrácí společenskou jistotu a své místo ve společnosti. Emoce jsou vystupňované a

neodpovídají situacím, které život přináší. Schizofrenici mají často vysoké sklonky k sebevraždám. Schizofrenie má mnoho podob, jsou lehčí případy, ale i velmi závažné. Sluchové a někdy i vizuální halucinace jsou také doprovodnými jevy choroby.

Není vymezená přesná doba projevu nemoci, nicméně nejčastěji dochází k propuknutí nemoci obvykle mezi 16. – 25. rokem života. Epidemiologické studie ukazují rovnoměrný výskyt schizofrenie ve všech částech světa s celoživotní prevalencí v mezích 1,4-1,6 případů na 1000 obyvatel (Jablensky, 1997). Schizofrenie může vážně poškozovat mozkové funkce, ale také může odeznít bez poruch kognitivních a intelektových funkcí.

Dědičnost hraje velkou roli při vzniku choroby. Jak genetické vlivy, tak vlivy prostředí jsou nezbytné pro manifestaci symptomů schizofrenie. Proměnlivost projevů schizofrenie je výsledkem proměnlivosti genotypu i změny prostředí. Mezi nejvýznamnější vlivy prostředí se řadí stres, slabé sociální interakce a poměrně velkou roli může hrát i zneužívání návykových látek. V současnosti se předpokládá, že dědičnost schizofrenie je polygenní, se vzájemně se ovlivňujícími mnohočetnými genetickými lokusy. Tento model dědičnosti schizofrenie předpokládá, že onemocnění se projeví, až účinek celé řady genů překročí určitou prahovou hodnotu. Faktory prostředí vysvětlují vznik schizofrenie asi z 20-50 % a mají vliv především na regulaci genetické exprese. Na genetické vlohy při vzniku schizofrenie ukazují adopční studie, nahromadění schizofrenie v rodinách a studie s dvojčaty. Vloha k onemocnění může být přenášena klinicky nediagnostikovanými jedinci. Další podporou pro významnou úlohu genetické složky u schizofrenie jsou adopční studie. Adopční studie ukázaly, že riziko spojené s nemocí rodiče nezaniká výchovou v adoptivní rodině (Gottesman a Shields, 1982).

V současné době se výzkum genetického vlivu u schizofrenie zaměřuje na hledání genů, které jsou spojeny s endofenotypy schizofrenie. Byla provedena také řada studií vazby. Cílem těchto studií bylo najít jak blízko jsou u sebe dva genetické lokusy: lokus spojený s fenotypem choroby a gen pro určitý ukazatel. Pokud jsou dva lokusy blízko sebe, je větší pravděpodobnost, že se dostanou oba do genetické informace potomka společně. Chromosomová lokalizace ukazatele tak prostřednictvím těsnosti vazby udává i přibližné umístění genetického lokusu

pro fenotyp choroby. Většina genů nalezená v místech na chromozómech pro genetickou vlohu ke schizofrenii souvisí s glutamátergním systémem. Tyto studie se provádějí v rodinách s větším počtem příbuzných a s několika nositeli chorobného fenotypu nebo v populaci s vysokou mírou genetické příbuznosti. Dalším typem genetických studií jsou asociační studie. Ty vycházejí z hypotézy o spojení určitého známého genu a choroby.

Schizofrenie se dělí na několik dalších podtypů, jakými jsou například hebefrenní, katatoni, paranoidní, reziduální, nediferencovaná a simplexní forma. **Hebefrenní schizofrenie** se obvykle začíná projevovat v době dospívání a projevuje se nevhodným a necitlivým chováním vůči svému okolí nebo náladovostí. Může se vyskytovat i nelogická řeč. Okolí tyto symptomy často zprvu považuje za projevy puberty u postiženého. **Katatoni forma schizofrenie** je velmi vzácná, projevují se u ní především psychomotorické poruchy, kdy postižený například zaujímá nezvyklé, až krkolomné polohy, ve kterých je schopen zůstat bez hnutí i několik hodin. Tyto epizody klidu jsou potom střídány epizodami agitovaného a neklidného chování. **Paranoidní schizofrenie** je zřejmě nejznámějším typem schizofrenního onemocnění. Postižený trpí bludy, pocity, že je neustále pronásledován, je nesmírně vztahovačný a má tendenci zveličovat nepodstatné projevy svého okolí a považovat je za nebezpečí pro svou vlastní osobu. **Simplexní forma schizofrenie** je charakterizována především postupným uzavíráním se do sebe sama, desocializací, ztrátou hygienických návyků apod. K léčbě schizofrenie a podobných psychiatrických onemocněních se používají léky ze skupiny antipsychotik, které pozitivně ovlivňují myšlení a zbavují nemocné halucinací, oslabují bludy a nebo alespoň mění vztah k nim, pacifikují neklidné a agresivní pacienty, ale bohužel mohou mít i vedlejší nežádoucí účinky. Nejčastějším nežádoucím účinkem je extrapyramidový syndrom, projevující se svalovou ztuhlostí a třesem, který je dobře ovlivnitelný anticholinergními léky.

Kognitivní deficit u schizofrenie se zásadně podílí na podobě výsledných stavů onemocnění, včetně pracovního a sociálního zařazení. Jedním z klíčových kognitivních postižení jsou poruchy paměti. Paměť je funkcí celého mozku, přičemž některé struktury jakými jsou hipokampus, kde dochází ke zpracování senzorické informace, bazální ganglia a amygdala, zodpovídající za emoční paměť, diencefalon, který pomáhá pamatovat si události, a asociační korové

oblasti společně s prefrontálním kortexem hrají klíčovou úlohu. U pacientů dochází k rozšíření komorového systému a regionálnímu rozšíření mozkových rýh (Höschl et al., 2004).

Výzkum paměťového deficitu u schizofrenie se soustředuje především na pracovní paměť a na poruchy informačního processingu: zpomalení zpracování, poruchy koordinace a organizace informací (Rodriguez et al., 2004).

2.2 Poruchy neuropřenašečových systémů

Dopaminergní model se opírá o původní dopaminovou hypotézu schizofrenie, která vychází z předpokladu, že hyperaktivita dopaminergních neuronů v limbické oblasti vyvolává pozitivní symptomy schizofrenie a naopak snížená aktivita dopaminergních neuronů v kortikálních oblastech generuje negativní symptomy (Carlsson, 1995). Nejčastěji se používá aplikace látek amfetaminu a apomorfinu. Aplikace vysokých dávek těchto látek schizofrenním pacientům prohlubuje jejich psychotické symptomy a u zdravých jedinců působí psychotomimicky. U zvířat tyto látky způsobují krátkodobé i dlouhodobé změny chování, především hyperlokomoci, kterou zapříčinuje zvýšená aktivita v mezolimbickém systému. Naopak stereotypii podmiňuje zvýšená aktivita striata (Moore, 1999). Podání amfetaminu nebo apomorfinu navozuje i kognitivní deficit, ale nezpůsobuje sociální deficit. Všechny uvedené změny mohou být ovlivněny podáním typických a atypických antipsychotik (Swerdlow a Geyer, 1998).

DA-zprostředkované nepodmíněné chování je hodnoceno pozorovanou lokomoční aktivitou, katalepsií a stereotypním chováním. DA-zprostředkované podmíněné chování zahrnuje vznik reakce podmíněné odměnou (buď potravou nebo stimulací mozku), preferencí místa, podmíněnou aktivitou a nebo podmíněným vyhýbáním se reakci. Schopnost pozornosti a zpracování informace je často měřena PPI (Swerdlow a Geyer, 1998).

Serotonergní model vychází ze známých psychotomimetických vlastností některých halucinogenních látek (**LSD** – dietylamin kyseliny lysergové, **DMT** – N,N-dimethyltriptamin). Jedná se o agonisty serotoninových receptorů (5HT_{2A}) a jejich podání lidem vyvolá projevy, které se podobají časnému stadiu schizofrenie (Bowers, Freedman 1996). Užití těchto látek působí především vizuální halucinace. Naproti tomu pro schizofrenii jsou typické především halucinace

sluchové. Některá antipsychotika používaná v klinické praxi působí také mimo jiné jako 5HT_{2A} antagonisté a i samotní 5HT_{2A/C} antagonisté mají antipsychotické účinky (Schmidt 1997). Většina atypických antipsychotik má výraznou afinitu k serotoninovým receptorům (Horáček, 2004).

V posledních letech je často diskutována úloha glutamátergní neurotransmise v etiopatogenezi schizofrenie. **Glutamátergní model** schizofrenie je založen na blokádě NMDA receptorů nekompetitivními antagonisty jakými jsou MK-801, ketamin, PCP (Coyle et al., 2004). Glutamát je hlavním excitačním neurotransmitem v mozku savců, který aktivuje dvě funkčně rozdílné skupiny receptorů: metabotropní receptory a ligandem řízené iontové kanály propustné pro Na⁺, K⁺ a Ca²⁺. Ionotropní glutamátové receptory lze podle aktivace specifickým ligandem dělit na podskupinu non-NMDA receptory, kam patří receptory aktivované α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazol propionovou kyselinou (AMPA) a kainátové receptory specificky aktivované kainátem. Druhou podskupinou jsou NMDA receptory.

2.3 Schizofrenie jako porucha glutamátergní transmise

Glutamátergní systém hraje důležitou roli při vývoji mozku, jeho plasticitě a neurotoxicitě. Glutamátergní neurony představují prakticky polovinu všech neuronů v CNS. Současné představy o patologii schizofrenie kladou důkaz právě na diskonektivitu glutamátergních neuronů. Blokáda NMDA receptorů u zdravých jedinců vyvolává vizuální halucinace, euforie a zároveň kognitivní deficit (Krystal, 2004).

Glutamátergní animální model schizofrenie, který byl zaveden před 20 lety, je založen na blokádě NMDA receptorů. U zvířat tito antagonisté způsobují celou baterii změn chování, kterou můžeme považovat za komplexní korelat psychózy u člověka. U zdravých jedinců akutní podání PCP vyvolává vizuální halucinace, euforii, katatonii a zároveň kognitivní deficit (Krystal, 1994). Dlouhodobé podávání PCP má potom za následek sluchové halucinace, kognitivní deficit, anxiózní nebo paranoidní chování a sociální deficit (Jentch a Roth, 1999). Tyto nálezy vedou k hypotéze, že porucha glutamátergního systému hraje důležitou roli v neurobiologii schizofrenie. U post mortem studií mozků pacientů

se schizofrenií byly nalezeny změny v metabolizmu glutamátu a v expresi glutamátových receptorů (Jentch a Roth, 1999).

U hlodavců a opic způsobuje nízká dávka těchto látek hyperlokomoci, stereotypní chování, poruchu kognitivních funkcí, poruchu ve zpracování informací a zhoršuje sociální chování (Jentch a Roth, 1999). Akutní podání antagonistů NMDA receptorů zvyšuje extracelulární hladiny dopaminu, glutamátu a acetylcholinu v prefrontální kůře (Verma a Moghaddam, 1996) a moduluje aktivitu dopaminergních neuronů v nc. accumbens (O'Donnell a Grace 1998).

Tento model nabízí možnost testování nových léků v léčbě schizofrenie, založených na zvyšování aktivity NMDA receptorů prostřednictvím metabotropních glutamátových receptorů nebo ovlivněním non-NMDA typu ionotropních receptorů (Moghaddam a Adams, 1998). Navíc mnoho antipsychotik působí přímo na NMDA receptory a může tak ovlivňovat aktivitu glutamátergního systému (Ossowska et al., 2000).

3. kapitola – Experimentální modely schizofrenii podobného chování

3.1 Význam animálních modelů

Animální modely neuropsychiatrických onemocnění je poměrně obtížné vytvořit, neboť hlavními příznaky u lidských pacientů jsou abnormální vnitřní stavů. Nicméně nezanedbatelný počet animálních – farmakologických, lézových a genetických modelů, které byly vyvinuty, a které simulují některé aspekty nemoci, mohou být využity jak při objasňování příčin onemocnění, tak při vývoji potenciálních léčiv. Žádný z těchto modelů není schopen zcela pokrýt rozmanitost projevů psychiatrických onemocnění, částečně také proto, že převážná část pokusných subjektů jsou potkani, ačkoli primáti jsou příležitostně také využíváni.

Animální modely vycházejí z morfologických, biochemických a genetických nálezů u pacientů s neuropsychiatrickou diagnózou. Využívají se při výzkumu fyziologie a patofyziologie mozku a při vývoji a testování nových léčebných postupů a farmakologických preparátů. Jejich využití končí tam, kde začínají nejvyšší funkce lidské psychiky, mezi které patří abstraktní myšlení, subjektivní prožívání či jazyk.

Význam animálních modelů je především v oblasti modelování lidských onemocnění. Jejich funkcí není plně odrážet lidskou patologii dané nemoci, ale najít určitou shodu mezi symptomy lidského onemocnění a změnami u zvířat na různých úrovních zkoumání. Při tvorbě animálních modelů dochází k izolaci určitých znaků nemoci nebo symptomů ze širokého klinického obrazu onemocnění, které se studují jednotlivě. Animální modely dovolují provést farmakologické a fyziologické manipulace a podle nich vybírat do studie odpovídající subjekty (Geyer a Markou, 1995).

Schizofrenie je typicky lidská psychóza a je tedy u laboratorních zvířat velice obtížné přesně napodobit percepční a emoční rysy tohoto onemocnění. V současnosti neexistuje animální model, který by zahrnoval všechny znaky schizofrenního onemocnění. Animální modely mohou být použity pouze pro lepší pochopení patofyziologických mechanismů provázejících psychotická onemocnění včetně schizofrenie. Žádný model nepokrývá zcela etiologii, neboť přesný mechanismus vzniku schizofrenie není dosud objasněn. Při modelování schizofrenie je důraz kladen na ověřování různých teorií, které se snaží odhalit

nebo potvrdit předpokládané příčiny této choroby. Cílem je studovat význam biologických nálezů u této choroby a snažit se vysvětlit mechanizmy schizofrenie podobného chování a na základě těchto výsledků navrhovat nové terapeutické a diagnostické postupy či testovat účinnost farmakologických látek. Modely se obvykle dělí na neurovývojové, farmakologické a genetické (Höschl et al, 2003).

Neurovývojové modely vycházejí z koncepce, že schizofrenie vzniká v důsledku chybného vývoje mozku v raných fázích vývoje, které vedou ke změnám jeho funkce i celkového chování, a které se projevují až v časné dospělosti jedince. Tyto modely testují význam rizikových faktorů, které působí během prenatálního a perinatálního vývoje a snaží se objasnit patofyziologické mechanizmy vyvolávající vznik schizofrenie podobného chování vzhledem k morfologickým změnám v různých oblastech mozku. Mezi neurovývojové modely se řadí **malnutriční model** založený na vlivu podvýživy na normální vývoj mozku, **prenatální expozice virem chřipky** a další viry indukující morfologické změny hipokampu, kortextu i mozečku.

Neméně významným animálním modelem jsou **mozkové léze**, které přispívají k objasnění patofyziologie a neurovývoje jednotlivých částí mozku ve spojení se schizofrenií. Animální lézové modely dovolují přesně kontrolované zásahy do vyvíjejícího se nebo dospělého mozku a mohou být srovnávány s chováním a neurobiologickými nálezy získanými z lidských studií. Časné excitotoxicke léze ventrálního hipokampu a ventrálního subikula, struktur, které mají spojení s prefrontální mozkovou kůrou, mění v dospělosti citlivost na amfetamin a antagonisty N-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů (dizocilpin-MK-801, fencyklidin-PCP). S tím souvisí i deficit PPI, latentní inhibice a současně zhoršení sociálního chování spolu s defektem pracovní paměti (Lipska a Weinberger, 1993). Podání antipsychotik (haloperidol, clozapin) normalizovalo některé změny v chování zvířat s neonatální lézí (Lipska a Weinberger, 1994).

Haloperidol blokuje vznik hyperaktivity u zvířat s lézí v hippocampusu, frontálním kortextu a dorzolaterální PFC. Tato zvířata mají zhoršení PPI, které se objevuje v 56. a ne v 35. dni po aplikaci (Lipska, 1995), snížení haloperidolem vyvolané katalepsie, snížení apomorfinem indukované stereotypie (Swerdlow, 1995), nárůst amplitudy úlekové reakce, přetravávající deficit v prostorovém učení

a pracovní paměti (Chambers, 1996). Potkani s lézí také mají snížené extracelulární hladiny DA ve striatu po vystavení stresu nebo po působení amfetaminu (Lillrank, 1999).

Excitotoxicke léze mediálního prefrontálního kortextu (MPFC), způsobené intrakraniální injekcí ibotenuvé kyseliny v 7. dni ontogeneze potkanů, byly zkoumány jako potenciální modely psychózy. Léze MPFC způsobují strukturální změny stejné jako při schizofrenii a regulují hladinu DA ve striatu (Jaskiw, 1990). Žádné změny v amplitudě úlekové reakce nebo v PPI však nebyly zaznamenány při neonatálních lézích MPFC (Brake, 2000). Mediální prefrontální kortex a ventrální hipokampus jsou součástí struktur zodpovědných za patologii schizofrenie a jsou vzájemně propojeny (Carr, 1996). Aferenty vycházející z hipokampu do PFC přenášejí excitační signály zprostředkovaně přes glutamátem a/nebo aspartátem ovládané NMDA a AMPA receptory (Jay, 1992).

Abnormality v těchto strukturách mozku také způsobují hlavní neuropsychologický deficit nalézaný u schizofrenie, a zvířata s lézemi v těchto strukturách sdílejí některé fenotypické znaky se schizofreniky. Léze cílené do PFC nebo hipokampu mají vliv na neurální funkce zprostředkované oběma oblastmi, což musí být uvažováno v interpretacích těchto lézových studií (Wong, 2003). Mimo časné léze ventrálního hipokampu byly podobné nálezy získány také po perinatálním poškození mediálního temporálního laloku primátů (Bachevalier et al., 1999), talamu a prefrontální kůry potkanů (Flores et al., 1999; Lipska a Weinberger, 2000) nebo po lézi způsobené intracerebroventrikulárním podáním excitotoxicke kyseliny kainové u mláděte potkana (Csernansky et al., 1998). Jedním z možných vysvětlení těchto pozdních projevů změn v chování je předpoklad, že některé jiné oblasti mozku mohou kompenzovat léze vzniklé před pubertou, tj. v době, kdy poškozené struktury nemusí být ještě plně funkční. Avšak v dospělosti, kdy se již do funkce zapojují všechny struktury mozku, se změny v chování mohou plně projevit (Goldman, 1971). Další vysvětlení spočívá ve zjištění, že časná léze by mohla snížit kompetici mezi jednotlivými neurony a tím chránit některé buňky či spojení před normálním zánikem během vývoje (Kolb a Gibb, 1990).

Farmakologické modely jsou založeny na použití látek – amfetaminu, apomorfínu, fencyklidinu – PCP, dietylamilidu kyseliny lysergové – LSD,

dizocilpinu – MK-801, apod., které u lidí zhoršují nebo přímo vyvolávají psychózu prostřednictvím působení na neurotransmitterové systémy. Vliv těchto látek je často studován pomocí behaviorálních testů. Mezi farmakologické modely se řadí dopaminergní, serotonergní a glutamátergní modely.

Genetické modely schizofrenie jsou založeny na použití transgenních zvířat, tj. geneticky modifikovaných laboratorních zvířat s cíleně odejmutým (knock-out) nebo nefunkčním (knock-in) genem nebo na selekci inbredních kmenů hlodavců s definovaným chováním. První genetické modely byly založeny na vyjmutí genu různých dopaminových receptorů (D_1, D_3), popřípadě genu dopaminového transporteru DAT-KO myši (Gainetdinov et al., 2001). Homozygotní myši (2/2) mají zvýšenou extracelulární hladinu DA, protože je inhibováno jeho zpětné vychytávání (Jones, 1998), vykazují hyperlokomoci (Giros, 1996) a zvýšené stereotypní chování. Také mají deficit v senzomotorickém zpracování a prostorové orientaci (Ralph, 2001), ale nemají deficit v sociální interakci. Hyperlokomoce je potlačována antipsychotiky (Spielewoy, 2000). Zatímco farmakologické modely schizofrenie počítají s dopaminergními látkami, DAT-KO myši mohou být přínosem pro porozumění abnormalitám v chování, spojovaným se schizofrenií, jako důsledku hyperdopaminového stavu, ještě dříve, než patologie v DAT bude prokázána u schizofrenie.

Vzhledem k rostoucímu významu glutamátergní hypotézy schizofrenie byly provedeny genetické manipulace také s NMDA receptory. Myši s vyřazenou NR2A podjednotkou NMDA receptoru (NR2A-KO myši) vykazovaly hyperlokomoci i kognitivní deficit (Miyamoto et al., 2001). Nejvíce prostudovaný genetický model je navozený 5% snížením exprese NR1 podjednotky NMDA receptoru u myší. Myši s vyřazeným genem pro NR1 podjednotku mají nedostatečnou expresi NMDA receptoru díky mutacím v genu pro NR1 podjednotku. Takto modifikované myši vykazují hyperlokomoci, sociální deficit a stereotypii. Tyto změny chování lze ovlivnit podáním haloperidolu nebo clozapinu (Mohn et al., 1999).

V současnosti se vytvářejí i modely, které manipulují s geny důležitými pro migraci buněk a jejich komunikaci během vývoje mozku např. Reelin protein, NCAM-180 (Lipska a Weinberger, 2000). Myším mutantům coloboma chybí

oblast, obsahující geny pro SNAP-25 a b-1 izoformu fosfolipázy C (Heyser, 1995). Tito mutanti vykazují hyperaktivitu nalézanou u potkanů F344 s lézí ventrálního hipokampu, podobnou jako hyperaktivita způsobená podáváním amfetaminu (Geyer, 1987). Hyperaktivita coloboma mutantů je napravena insercí transgenu SNAP-25 do genomu mutantního zvířete, což prokázalo, že hyperaktivita byla způsobená delecí SNAP-25 (Hess, 1996). Coloboma myši také v určitých oblastech vykazují deficit v neurotransmisi, zejména v uvolňování glutamátu a DA (Raber, 1997).

3.2 Validita modelů

Pro experimentální využití animálních modelů je nezbytné, aby vykazovaly vysokou míru spolehlivosti a prediktability. Jinými slovy míru schopnosti předpovídat vybrané modelové vlastnosti u člověka a vést k lepšímu porozumění daného fénoménu. Tato vlastnost by neměla být zaměňována s farmakologickým izomorfizmem (tj. s pravděpodobným účinkem u lidí). Model musí být pochopitelně také dostatečně konzistentní a stabilní (Geyer a Markou, 1995).

Pro tyto účely byl pro animální modely vytvořen pojem validita neboli platnost modelu. Bylo určeno několik kritérií, která určují vlastnosti modelu. Nejdůležitějšími kritérii kvality animálních modelů jsou jejich predikční, konstruktivní a fenomenologická validita.

Predikční validita je nejdůležitějším kritériem pro hodnocení animálního modelu z pohledu účinku farmakologických látek, resp. se jedná o index přesnosti modelu ve vztahu k identifikaci určité třídy farmakologických látek. Jestliže má látka schopnost ovlivnit příznaky poruchy také u člověka, má model vysokou predikční validitu (Donát, 1999). Dalším důležitým kritériem je **konstruktivní validita**, významná zejména u modelů založených na znalosti známé etiologie lidské patologie, snažící se příčinu choroby objasnit. Vyjadřuje, do jaké míry je příčina projevů u člověka a zvířete shodná. **Fenomenologická validita** je založena na využití analogie se symptomy lidské patologie (Overall, 2000). Dalšími kritérii může být **rozlišovací validita** modelu, která ukazuje schopnost modelu být specifický pouze pro určité onemocnění a **konvergentní validita** ukazující míru shody mezi různými modely stejného onemocnění.

Při vytváření animálních modelů psychotických stavů je třeba brát zřetel na fakt, že schizofrenie a jí podobné poruchy jsou typicky lidským onemocněním. Není tedy možné vytvořit model s úplnou konstruktivní, fenomenologickou i predikční validitou. Na chování laboratorních zvířat můžeme tedy sledovat změny, které jsou analogem klinických aspektů schizofrenie. Například korelátem pozitivních psychotických symptomů člověka je zvýšená lokomoční aktivita, kterou můžeme vyvolat například dopaminergními agonisty či antagonisty NMDA receptorů. Podobně nalézáme tyto změny ve stereotypním a sociálním chování, v náchylnosti na stres, v oblasti deficitu pozornosti, zpracování informace i kognitivních funkcí. Velice výhodné jsou testy, kdy danou veličinu můžeme měřit podobným způsobem na laboratorním zvířeti i u člověka. Příkladem takovýchto testů jsou testy hodnotící deficity ve zpracování informace a testy prostorové paměti.

Při studiu neurobiologie psychiatrických chorob se animální modely výrazně osvědčují. Jejich hlavní přínosy spočívají v možnosti experimentálních zásahů v nejrůznějších oblastech mozku a v různých stádiích vývoje. Umožňují nám jednak nacházet diagnosticky významné ukazatele nemocí, ale také nám umožňují testovat nové terapeutické postupy. Jejich velkou výhodou je značná prediktivní síla v určování účinku nových látek. Neurovývojové modely schizofrenie se vyznačují vysokou konstrukční validitou (Höschl et al., 2004). Dobrou fenomenologickou validitu mají modely založené na neonatálním poškození mozku, modelované například ozařováním rentgenovými paprsky (Mintz et al., 1997) nebo prenatální expozicí toxinem methylazoxymetanol acetátem – MAM. Takto poškozená neurogeneze způsobí objemové zmenšení oblastí mozku, které souvisejí se schizofrenií (hipokampus, frontální a entoriální kůra). Zvířata vykazují změny v chování typické pro jiné modely schizofrenie, jako stereotypii, lokomoční hyperaktivitu, poškození PPI a latentní inhibici (Talamini et al., 1998). Farmakologické modely mají velmi dobrou fenomenologickou i predikční validitu (Bubeníková et al., 2003).

3.3 Model schizofrenii podobného chování navozený blokádou NMDA receptorů

Glutamátergní systém hraje význačnou úlohu při vývoji mozku (tvorba a stabilizace synapsí), plasticitě mozku (učení a paměť) a neurotoxicitě. Ve zdravém nervovém systému glutamát zajišťuje správnou tvorbu a stabilizaci synapsí. Normální koncentrace glutamátu v mozkové intersticiální tekutině zvyšuje počet synapsí a je důležitá k vytvoření plně funkčních nervových okruhů se správnou komunikací mezi jednotlivými buňkami. Úloha glutamátu a především NMDA receptorů ve vývoji centrální nervové soustavy má význam pro neurogenezi, migraci, proliferaci, zánik neuronů, růst axonů, formaci a eliminaci synapsí (Nguyen et al., 2001). Ionotropní glutamátové receptory regulují také přechod z proliferační fáze na postmitotickou diferenciaci neuronů. Glutamát také stimuluje růst neuritů z granulárních buněk v hipokampusu (Luján et al., 2005).

Zvýšená aktivace ionotropních glutamátových receptorů vede k excitotoxickému poškození a případně i k zániku buňky. Excitotoxiccká smrt buňky vzniká v důsledku dlouhodobě zvýšené hladiny intracelulárních Ca^{2+} a následné aktivace enzymatických procesů vedoucích k buněčné smrti. Zvýšená hladina glutamátu aktivuje AMPA receptory a následně napěťově ovládané Na^+ kanály, což depolarizuje membránu. Částečná depolarizace uvolňuje Mg^{2+} z NMDA receptorů a následně dochází k aktivaci těchto receptorů glutamátem. Dlouhodobá depolarizace způsobuje nejen vstup Na^+ do buňky, ale také pasivní vstup Cl^- a vody, který způsobí porušení osmotické rovnováhy, ovšem nemusí nutně znamenat její zánik.

Glutamátové receptory se dělí na dvě hlavní kategorie receptorů: metabotropní a ionotropní receptory. Ionotropní glutamátové receptory se dělí na N-methyl-D-aspartátové (NMDA), AMPA a kainátové receptory, které společně zprostředkovávají rychlý synaptický přenos na většině excitačních synapsí v centrální nervové soustavě. Aktivace NMDA receptorů je nutná pro navození dlouhodobé potenciace synaptického přenosu (LTP), která se uplatňuje při vytváření neuronové plasticity a paměťových stop. Naopak nadměrná aktivace NMDA receptorů vede k patologickým procesům, které mohou být excitotoxické. NMDA receptory (obrázek č. 1) se vyskytují ve velkém množství v celém mozku a jsou nezbytné pro jeho normální činnost. Ionotropní glutamátové receptory

aktivují signální kaskády vtokem Ca^{2+} do neuronů synaptickými NMDA receptory. Funkce extrasynaptických NMDA receptorů zatím není jasná, ale experimentální práce naznačují, že jejich dlouhodobá aktivace vede k buněčné smrti (Choi et al., 1990).

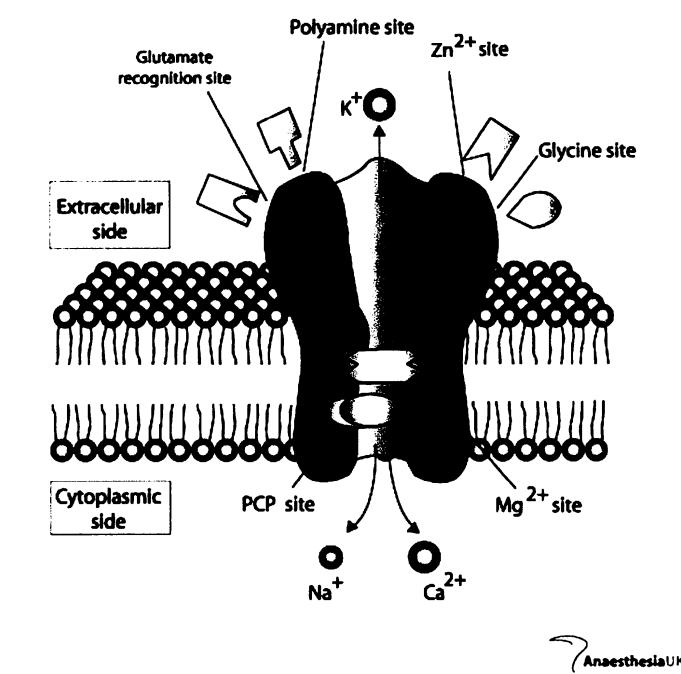
NMDA receptory jsou heterotetramery tvořené kombinací různých typů podjednotek označovaných NR1, NR2 a NR3 (Ishi 1993, Sucher 1995, Chatterton 2002). Předpokládá se, že funkční NMDA receptory vznikají kombinací dvou podjednotek NR1 typu a dvou podjednotek NR2A-D nebo NR3A-B typu (McBain 1994, Das 1998). Jejich přítomnost propůjčuje receptorovému komplexu rozdílné vlastnosti dané nejen dobou, po kterou je glutamátem aktivovaný iontový kanál otevřen, ale i modulací funkce receptoru látkami ze skupiny polyamidů, neurosteroidů nebo iontů, včetně změněné afinity receptorových míst pro oba agonisty (glutamát a glycín). Zatímco NR1 podjednotka je exprimována ve velkém množství v celém mozku, exprese podjednotek NR2 je výrazně regionálně ohraničena (Moriyoshi K 1991, Monyer H 1992). NR2A a NR2B podjednotky jsou exprimovány v hipokampusu a neokortexu, NR2C podjednotka je přítomna téměř výlučně v cerebellu a NR2D podjednotka je přechodně exprimována během embryonálního vývoje. Z experimentů provedených na rekombinantních i nativních NMDA receptorech vyplynulo, že podjednotkové složení receptoru výrazně ovlivňuje jeho funkční a farmakologické vlastnosti (Ishi 1993, Monyer 1992, Medina 1995).

Pro otevření iontového kanálu NMDA receptorů, selektivně propustného pro Na^+ , K^+ a Ca^{2+} , je nezbytná současná aktivace vazebních míst specifických pro glutamát a glycín. Společnou vlastností blokátorů iontových kanálů NMDA receptorů je jejich struktura, vazba do iontového kanálu a působení, jež je závislé na membránovém potenciálu a aktivaci receptoru. Všechny blokátory iontového kanálu NMDA receptoru jsou kationty, jejichž velikost je nepatrně větší než pór otevřeného iontového kanálu tj. $> 0,55$ nm (Vyklický et al., 1988). Tato velikost jim umožňuje do iontového kanálu vstupovat, ale ne jím volně procházet do intracelulárního prostoru. Přítomnost blokátorů uvnitř iontového kanálu zabrání toku Na^+ a Ca^{2+} kanálem a tudíž brání aktivaci tohoto receptoru. Na negativních membránových potenciálech mají látky s kladným nábojem přirozenou tendenci se pohybovat z extracelulárního prostoru do nitra buňky, což platí pro všechny

kationty procházející přes membránu (Na^+ , Ca^{2+}), ale i pro kationty, které přes membránu nepřecházejí (Mg^{2+} , ketamin, MK-801, PCP, atd.). Míra této tendence je podmíněna velikostí membránového potenciálu (zvětšuje se při hyperpolarizaci a naopak při depolarizaci se snižuje). Místo, kde se blokátory váží je umístěno uvnitř iontového kanálu a je dostupné pouze pokud je kanál v otevřen, tj. v konformačním stavu vzniklém v důsledku aktivace NMDA receptoru glutamátem a glycinem. Vzhledem k této vlastnosti se dá předpokládat, že tyto látky budou působit především v těch oblastech mozku, kde jsou NMDA receptory nadměrně aktivovány (Rogawski 1993).

Farmakologický účinek blokátorů je podmíněn jejich afinitou. Podle ní lze blokátory rozdělit do několika skupin. **Látky s nízkou afinitou** ($\sim 100 \mu\text{M}$ na membránovém potenciálu -70 mV) se vyznačují rychlou kinetikou vazby a odvazování, a jejich typickým představitelem je Mg^{2+} . Memantin, který zlepšuje kognitivní schopnosti u pacientů s AD patří mezi **látky se střední afinitou** ($\sim 1 \mu\text{M}$ na membránovém potenciálu -70 mV). K **látkám s vyšší afinitou** ($\sim 0.1 \mu\text{M}$ na membránovém potenciálu -70 mV) patří některá celková anestetika např. ketamin. PCP a MK-801 se řadí mezi látky s vysokou afinitou ($< 0.1 \mu\text{M}$ na membránovém potenciálu -70 mV) (Petrovič M et al., 2004). Nekompetitivní antagonisté se váží uvnitř iontového kanálu NMDA receptoru: Mg^{2+} , dizocilpin (MK-801), memantin, fencyklidin (PCP), ketamin. Psychotropní účinky blokátorů s vysokou afinitou ($< 0.1 \mu\text{M}$ na membránovém potenciálu -70 mV) mezi které patří PCP i MK-801 vyvolávají stavy podobné psychóze s příznaky připomínajícími schizofrenii (Abi-Saab WM 1998, Enarson MC 1999).

Schematic representation of the NMDA (N - Methyl D- Aspartate) receptor complex



AnaesthesiaUK

Obr. 1 Schématické znázornění NMDA receptoru.

Glutamová kyselina je hlavní excitační neuropřenašeč mezi neurony centrální nervové soustavy. K syntéze této dikarboxylové aminokyseliny dochází v terminálech presynaptických neuronů (Ottersen 1992, Ottersen 1996). Specifické vezikulární transportéry koncentrují glutamát v synaptických váčcích, které jsou v blízkosti presynaptické membrány uspořádány do aktivních zón. Do synaptické štěrbiny se glutamát uvolňuje mechanismem závislým na vápníkových kationtech. Uvolnění glutamátu z terminálů během excitačního synaptického přenosu vede ke krátkodobému (~ 1ms) zvýšení koncentrace v synaptické štěrbině až na milimolární úroveň (Clements 1992, Diamond 1997) a k aktivaci ionotropních glutamátových receptorů. Glutamát je z extracelulárního prostoru odstraňován poměrně rychle transportními mechanismy do glií. V gliích je glutamát metabolizován na glutamin, který může přecházet zpět do extracelulárního prostoru, odkud je transportován do neuronů a přeměněn zpět na glutamát.

Následující kapitoly popisují konkrétní antagonisty NMDA receptorů: PCP, ketamin a MK-801.

3.3.1 Fencyklidin (PCP)

PCP je halucinogen, jehož určitá dávka vyvolává psychotické symptomy u lidí, podobné psychózám u lidí se schizofrenií. Jedná se o antagonistu NMDA glutamátových receptorů, ale interaguje i se sigma, dopamin D2 a 5-HT2 receptory (Kapur et al., 2002). Sigma receptory nebyly ještě úplně popsány, ale zdá se, že zprostředkovávají modulaci iontových kanálů psychoaktivními látkami přes proteino-proteinové interakce (Aydar, 2002). Ligandy sigma receptorů mohou pozměnit transmembránový průtok iontů skrz NMDA receptory (Yamazaki, 1991) a modulují kognitivní efekt PCP (Noda et al., 2001). Některé účinky PCP na chování jsou podobné jako ty způsobené amfetaminem. U potkanů tyto účinky zahrnují přetravávající zvýšenou lokomoční aktivitu a stereotypní chování (Steinpreiss, 1996).

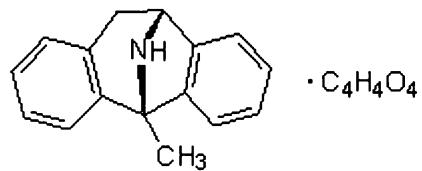
Dlouhodobé podávání PCP způsobuje psychotické stavy u lidí, zahrnující sluchové halucinace, paranoidní představy a kognitivní deficit. U ostatních primátů PCP snižuje prefrontální korovou transmisi DA asociovanou s frontostriatální kognitivní dysfunkcí, podobnou jakou vykazují nálezy u schizofrenie (Jentsch et al., 1999). Dlouhodobé působení PCP způsobuje u opic trvalý deficit, který přetravává i po vysazení. Kognitivní deficit je kompenzován podáváním klozapinu (Jentsch et al., 1997). Primáti, kterým byl aplikován PCP, také projevují změny v lokomoční aktivitě a v sociálním chování se zachováním motorických funkcí, což jsou znaky, které vyjadřují větší komplexitu schizofrenie než jiné farmakologické modely (Jentsch et al., 1999).

3.3.2 Ketamin

Ketamin nebo přesněji hydroxychlorid ketaminu se chemicky podobá PCP. Jedná se o derivát cyklohexanonu. Jako jedno z mála anestetik blokuje nervové dráhy, aniž by omezil dechové funkce, a proto je používán jako bezpečné a spolehlivé anestetikum. Má analgetické, amnestické, anestetické, antikonvulzivní a psychomimetické účinky. Navozuje zvláštní stav, který se nazývá disociativní anestezie. Název zvolili Corsen a Domino (1965) podle elektroencefalografických studií, kdy pozorovali disociaci mezi ovlivněním thalamokortikálního a limbického systému. Klinicky dochází k disociaci mezi ovlivněním stavu vědomí a vnímání bolesti. Ztráta vědomí není srovnatelná

s účinkem ostatních celkových anestetik a přibližuje se halucinatorním stavům. Jedním z nežádoucích účinků ketaminu jsou zejména v období probouzení psychomimetické účinky. Na nich se podílí především vazba ketaminu na κ -opiátové a acetylcholinové receptory muskarinového typu (Hess, 2006).

3.3.3 MK-801



Obr. 2 Vzorec MK-801

MK-801, dizocilpin, resp. (5R,10S)-(+)-5-metyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]-cyklohepten-5,10-imin hydrogen-malát je nekompetitivní antagonista ionotropních glutamátových receptorů N-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů. Mezi jeho účinky patří deficit ve zpracování senzorimotorických informací - měřeno testem prepulzní inhibice úlekové reakce, PPI (Bubeníková et al., 2005), hyperlokomoce, stereotypie, způsobuje poruchu sociálních interakcí a kognitivní deficit (pracovní paměť a prostorová orientace). MK-801 má vysokou afinitu k NMDA receptoru.

MK-801, byl klinicky testován, neboť působí neuroprotektivně při mozkové příhodě, ale pro významné nežádoucí účinky byl stažen z klinického hodnocení (Muir a Less, 1995). Působení dizocilpinu zřejmě vede ke zvyšování metabolické aktivity neuronů a utilizaci glukózy v oblasti gyrus cinguli a retrospleniální kůry, což způsobuje, že vysoké dávky dizocilpinu způsobují vakuolizaci a snad i nekrózu neuronů (Fix et al., 1993).

4. kapitola – Mechanismy působení antipsychotických látek

4.1 Rozdělení antipsychotik

Ačkoliv dnes antipsychotické látky představují základní terapeutický nástroj pro léčbu schizofrenie a dalších psychotických stavů, jejich účinek je spojen s řadou nevyřešených otázek. Tyto látky příznivě ovlivňují psychotické příznaky produktivní, negativní, afektivní a kognitivní. **Pozitivní psychotické příznaky** zahrnují halucinace, bludy, dezorganizaci myšlení, agresivitu a agitovanost. Produktivní symptomy jsou příznivě ovlivňovány všemi skupinami antipsychotik, tj. bazálními, incisivními i atypickými. **Negativní psychotické příznaky** se projevují autismem, emoční opoštělostí, zúžením až ztrátou zájmů, na které mají největší vliv atypická antipsychotika. K **afektivním symptomům** řadíme depresi a úzkost a tzv. smíšené epizody, ve kterých jsou současně přítomny příznaky depresivní a manické. Afektivní příznaky lépe potlačují bazální než incisivní antipsychotika, nejvíce však atypická. Kognitivní deficit spočívá v narušení zpracování nových informací, paměti, koncentrace a pozornosti, plánování a řešení komplexních úkolů, vizuálně-motorické dovednosti, řečové schopnosti aj. Kognitivní funkce jsou nejpříznivěji ovlivňovány opět atypickými antipsychotiky.

Antipsychotika je možno rozdělit podle mechanismu působení, klinického účinku a výskytu nežádoucích příznaků na bazální (také sedativní), incisivní a atypická. **Bazální (sedativní) antipsychotika** účinkují především na produktivní a afektivní příznaky, ale jen minimálně ovlivňují negativní symptomatiku. Kromě toho působí sedativně a některá i hypnoticky. Jsou charakterizována častými anticholinergními, antihistaminovými a kardiovaskulárními nežádoucími účinky, avšak současně oproti incisivním antipsychotikům méně intenzivními extrapyramidovými reakcemi. Zástupci bazálních antipsychotik jsou chlorpromazin, levomepromazin, periciazin, chlorprothixen a zuclopenthixol. **Incisivní antipsychotika** nejúspěšněji ovlivňují produktivní psychotické příznaky, méně negativní a minimálně afektivní symptomatiku. Na jedné straně jsou zatížena četnými a závažnými extrapyramidovými nežádoucími účinky, na druhé straně nepůsobí anticholinergně a jen minimálně ovlivňují kardiovaskulární systém. Do této skupiny antipsychotik patří perphenazin, prochlorperazin, haloperidol, melperon, pimozid atd.

Atypická antipsychotika (také zvaná antipsychotika 2. generace) mají nejpříznivější klinický profil: ovlivňují jak příznaky pozitivní, tak negativní a afektivní, některá rovněž zlepšují kognitivní deficit, a předpokládá se jejich účinnost i u farmakorezistentních forem. Je pro ně charakteristický nízký výskyt extrapyramidových nežádoucích účinků.

Podle mechanismu účinku se atypická antipsychotika dělí na specifické **antagonisty dopaminových D₂/D₃ receptorů**, dopaminové a serotoninové antagonisty (**SDA**) a tzv. multireceptorové antagonisty (**MARTA**-Multi Acting Receptor Targeted Antipsychotics). Z vazebného profilu jednotlivých skupin vyplývá i charakter nežádoucích účinků. Klasifikace podle mechanismu účinku se kryje s rozdelením podle chemických struktur – specifickými antagonisty dopaminových D₂/D₃ receptorů jsou benzamidy (sulpirid, amisulpirid), dopaminovými a serotoninovými antagonisty jsou benzisoxazoly a imidazolidiny (SDA – risperidon, sertindol, iloperidon), multireceptorovými antagonisty jsou dibenzodiazepiny (MARTA – clozapin, olanzapin, quetiapin, ziprasidon, zotepin) (Švestka, 2000, Kopeček 2002).

4.2 Dopaminergní modulace

Blokáda D₂ receptorů v mozku je společnou farmakodynamickou vlastností všech antipsychotik a zdá se, že bez dopaminergní blokády postrádá lék antipsychotické vlastnosti (Seeman, 2002). Dopamin je neuromodulátor, který působí v mozku cestou dvou základních skupin dopaminových receptorů. D₁ a D₅ receptory jsou si podobné ve své struktuře a mechanizmu intracelulární signalizace (zvýšení cAMP) a jsou označovány za **D_{1-like} receptory**. D_{2,3,4} receptory snižují cAMP a jsou označovány jako **D_{2-like}** (Knable et al., 1997; Tschentke, 2001). Vlastní antipsychotický efekt je spojován s blokádou D₂ receptorů. Míra blokády D₂ receptorů je v přímé relaci k antipsychotickému efektu. Mezi dnes již paradigmatické poznatky patří tzv. terapeutické okno procentuální blokády D₂ receptorů ve vztahu k účinnosti a rozvoji extrapyramidového syndromu (EPS) definované na základě sérií zobrazovacích studií. Farde a kol. jako první prokázal, že blokáda cca 70% striatálních D₂ receptorů je typická pro většinu antipsychotik (s výjimkou clozapinu) v běžných dávkách (Farde et al., 1988). Opakováně bylo potvrzeno, že blokáda vyšší

způsobuje EPS (Farde et al., 1992; Kapur, 2001; Sedvall et al., 1995; Seeman, 2001).

4.3 Serotonergní modulace

Zájem o serotonergní modulace v terapii schizofrenie byl historicky dán skutečností, že agonisté 5HT_{2A} receptorů (jako je LSD) jsou silnými psychedeliky schopnými modelovat psychotické stavy (Peroutka, 1994; Roth et al., 2003). **Blokáda** 5HT_{2A} receptorů v terapii schizofrenie se tedy ukazovala jako velmi nadějná. Heuristicím problémem však zůstává fakt, že psychotické stavy navozené agonisty 5HT_{2A} receptorů se ve své fenomenologii podstatně liší od příznaků psychóz schizofrenních (Krystal et al., 1994; Vollenweider, 1998). Rovněž antipsychotický potenciál čistých 5HT_{2A} antagonistů není doposud přesvědčivě prokázán (Abi-Saab et al., 2002; Wiesel et al., 1994). Na druhé straně anatomická lokalizace 5HT_{2A} receptorů podporuje jejich možnou roli v antipsychotickém působení. 5HT_{2A} receptory jsou lokalizovány v V. vrstvě neokortexu. V této vrstvě neokortexu dochází k integraci (a „komputaci“) vstupů z různých kortikálních a subkortikálních oblastí mozku (Jakab et al., 1998) a tento fakt dělá z 5HT_{2A} blokády mimořádně zajímavou oblast již s ohledem na etiopatogenezi schizofrenie.

Psychotomimický efekt antagonistů NMDA receptorů je blokovatelný selektivními antagonisty 5HT_{2A} receptorů (Martin et al., 1998). Ovlivnění 5HT_{2A} receptorů vyvolává depolarizaci pyramidových buněk a z těchto důvodů byla formulována spekulace, že právě blokáda 5HT_{2A} receptorů je zodpovědná za normalizaci aktivity pyramidových buněk, která vede k léčebnému efektu atypických antipsychotik (Martin et al., 1998). Rovněž aktivita striato-pallidálních GABA neuronů, které modulují činnost 5-HT a dopaminegních neuronů, je regulována cestou 5-HT receptorů a tento mechanizmus může vysvětlit vyšší bezpečnost nových antipsychotik snížením rizika EPS (Bubser et al., 2001). Podporou role 5HT_{2A} receptorů v profilu atypických antipsychotik je také fakt, že inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) mohou naopak indukovat EPS (Gill et al., 1997).

4.4 Kombinované modulace

Blokáda 5HT_{2A} a D₂ receptorů byla v roce 1989 poprvé označena za farmakodynamický mechanizmus, který odlišuje klasická antipsychotika od atypických (Meltzer et al., 1989a; Meltzer et al., 1989b). Atypická antipsychotika byla Meltzerem definována jako léky, které mají jednak vyšší afinitu k 5HT_{2A} receptorům nežli k D₂ receptorům a jednak nižší afinitu k D₂ nežli antipsychotika klasická. Tato dvě kritéria umožnila Meltzerovi (1989a, 1989b) a dalším (Roth et al., 2003) rozdělit antipsychotika do dvou skupin a potvrdit ve většině případů schopnost predikovat klinické vlastnosti antipsychotik podle afinitních konstant pro 5HT_{2A} a D₂ receptory. V případě nigrostriatální dopaminergní dráhy byl navržen model, podle kterého blokáda 5HT_{2A} receptorů vede ke zvýšení výdeje dopaminu do striata. Tato zvýšená extracelulární aktivita dopaminu ve striatu „vytěší“ vazbu antipsychotika z D₂ receptorů a snižuje tak riziko rozvoje EPS (Kapur et al., 1996). 5HT_{2A}/D₂ antagonismus na úrovni projekce do limbických a mediofrontálních oblastí je dáván do souvislosti s vyšší efektivitou atypických antipsychotik na pozitivní příznaky. V případě těchto oblastí (obě asociované s limbickými strukturami) vedou agonisté 5-HT_{2A} receptorů ke zvýšení výdeje dopaminu (Yan 2000) a antagonisté naopak ke snížení dopaminergního výdeje (Pehek et al., 2001). 5HT_{2A} antagonismus by tedy měl potencovat antipsychotický (antidopaminergní) potenciál léku i při stávající nižší afinitě k vlastním D₂ receptorům. Z hlediska porozumění účinku je důležitý fakt, že při dlouhodobém podávání atypických antipsychotik dochází k adaptivním změnám v serotonergním systému ve „stejném směru“ jako při akutní blokádě. Dlouhodobé podávání vede ke snížení down-regulaci (resp. internalizaci) 5-HT_{2A} receptorů (Gray et al., 2001b; Gray et al., 2001a).

4.5 Neurobiologie a neuromodulace antipsychotik

V posledním desetiletí byla rozpracována teorie schizofrenie jako onemocnění, které vzniká v důsledku dysfunkce (konektivity) glutamátergního systému, tedy toho systému, který představuje hlavní substrát pro vlastní zpracování informací. Důkazů pro glutamátergní dysfunkci u schizofrenie je dnes řada. Například je post mortem zjištěována snížená hustota dendritů pyramidových buněk prefrontálního kortextu, snížený počet glutamátergních synaptosomů a snížená exprese mRNA pro synaptotifyzin, marker synaptické denzity (Bartzokis,

2002; DeLisi, 1992; Glantz et al., 2000; Weinberger et al., 2001). Snížený objem mozku u schizofrenie při zvýšené hustotě pyramidových neuronů svědčí pro fakt, že morfologickým substrátem tohoto onemocnění je spíše snížený počet neuronálních vláken a synapsí, nežli snížený počet vlastních neuronů. Absence gliozy v mozku schizofrenních osob svědčí proti představě degenerativního nebo zánětlivého procesu a potvrzuje teorii neurovývojové etiologie morfologických nálezů u schizofrenie (Selemon et al., 1995; Selemon et al., 2003). Abnormality jsou navíc přítomny již před vlastním nástupem nemoci (Weinberger, 1997). Teorie glutamátergní dysfunkce u schizofrenie je podporována také skutečností, že fencyklidin a další antagonisté glutamátergních NMDA receptorů mohou u zdravých osob modelovat schizofrenní příznaky z hlediska fenomenologie lépe nežli serotonergní psychedelika (např. LSD) a mohou zhoršit nebo exacerbovat psychózu u schizofrenních nemocných (Krystal et al., 1994).

Na hlubší úrovni popisu interakce mezi antipsychotiky a neurovývojem alterovanou funkcí a strukturou mozku jsou významné nálezy potvrzující **neuroplastické působení** antipsychotik. Již samotný oddálený nástup působení antipsychotik poukazuje na to, že léčebný efekt je spojený s přestavbou struktury neuronálních mikrookruhů a okruhů a nikoliv tedy jen samotnou blokádou receptorů nebo změnami hladin neuropřenašečů, ke kterým dochází takřka okamžitě po podání léku. Podkladem antipsychotiky navozené strukturální přestavby neuronálních sítí je indukce neuroplastických změn. Neuroplasticita umožňuje nervovému systému adaptovat se na změny prostředí a zahrnuje jednak synaptickou plasticitu (remodelaci synapsí a vznik nových spojů mezi neurony) a jednak neurogenezi (vznik nových neuronů). V případě haloperidolu je indukce synaptické plasticity prokázána především ve striatu, kde je nejvyšší koncentrace D₂ receptorů. Nepřímo ji potvrzují již volumometrické studie, které nacházejí zvětšení bazálních ganglií po terapii haloperidolem. Zvětšení bazálních ganglií je reverzibilní a odeznívá po vysazení léčby nebo po převedení na clozapin s výrazně nižší D₂ afinitou (Bilder et al., 1994; Chakos et al., 1994; Chakos et al., 1995). Podkladem neuroplastických změn je zvýšení cAMP po blokádě D₂ receptorů. cAMP aktivuje proteinkinázu A (PKA), která jednak fosforyluje (posiluje) NMDA a další receptory, jednak aktivuje transkripční faktory regulující

expresi genů včetně neuronálních růstových faktorů (Angelucci et al., 2004; Konradi et al., 2003).

Bylo popsáno regionálně stratifikované zvýšení syntézy neurotrofinu **NGF** (nerve growth factor) po podávání antipsychotik (Angelucci et al., 2000a). Zvýšení NGF je mediováno blokádou D₂ receptorů a NGF zvyšují i klasická antipsychotika (Ozaki et al., 1999; Ozaki, 2000). **BDNF** (brain derived neurotrophic factor) je druhým neuronálním růstovým faktorem, jehož exprese je ovlivněna antipsychotiky. V případě BDNF se však účinky jednotlivých antipsychotik výrazně liší. Po podání haloperidolu a risperidonu bylo pozorováno snížení jeho produkce (mRNA) v hipokampusu, frontálním a orbitálním kortextu potkanů (Angelucci et al., 2000b; Chlan-Fourney et al., 2002c). Naopak po chronickém podávání olanzapinu došlo ke zvýšení exprese BDNF v CA1, CA3 oblasti hipokampusu a v gyrus dentatus (Bai et al., 2003). Olanzapin je navíc schopen normalizovat snížení BDNF po předchozím podávání haloperidolu (Parikh et al., 2004). Z hlediska glutamátergní teorie schizofrenie je rovněž mimořádně zajímavé pozorování, že MK-801, nekompetitivní antagonista NMDA receptorů, snižuje expresi BDNF (Castren et al., 1993; Fumagalli et al., 2003b). Přidání haloperidolu vede v animálním modelu ke zvýraznění tohoto snížení a olanzapin naopak MK-801 sníženou expresi BDNF normalizuje (Fumagalli et al., 2003a). Z hlediska účinku atypických antipsychotik je důležité, že samotný 5-SHT_{2A} antagonismus vede ke zvýšené produkci BDNF (Chlan-Fourney et al., 2002b; Vaidya et al., 1997; Vaidya et al., 1999) a D₂ antagonismus vede naopak ke snížení BDNF (Meredith et al., 2004). To vysvětluje BDNF stimulující efekt olanzapinu. Risperidon je sice také silným 5HT_{2A} antagonistou, ale pro svou vysokou afinitu k D₂ receptorům v jeho případě může převažit D₂ mediována suprese BDNF. Risperidon se proto chová obdobně jako haloperidol a BDNF snižuje. Podporou této spekulace je zjištění, že risperidon ve velmi nízkých dávkách, kdy převažuje blokace 5HT_{2A} nad nenasycenou blokádou D₂, ztrácí BDNF snižující efekt resp. hladinu BDNF nemění (Chlan-Fourney et al., 2002a). Jak fosforylace NMDA receptorů, tak i indukce růstových faktorů (NGF a BDNF) se podílejí na vzniku nových synapsí, resp. jejich remodelaci (Konradi et al., 2001) a touto cestou mohou antipsychotika léčebně ovlivnit neurovývojový deficit spojený se snížením počtu synaptických spojení (Hoffman et al., 1993).

Tento trofický efekt však může přejít v případě haloperidolu do neurotoxického poškození (Harrison, 1999) způsobeného přílišnou facilitací NMDA receptorů s excesivním influxem vápníku do neuronů (Konradi et al., 2001). Makroskopickým důsledkem je potom zmenšení bazálních ganglií spojené s rozvojem tardivních dyskinéz (Dalgalarrodo a Gattaz, 1994; Mion et al., 1991).

Je pravděpodobné, že indukce neuroplastických změn atypickými antipsychotiky probíhá nejen ve striatu, ale také v dalších oblastech zahrnutých do neurobiologie schizofrenie. Průkazem tohoto předpokladu je dnes především atypickými antipsychotiky indukovaná časná genová exprese v prefrontálním kortextu a dalších oblastech mozku při současné nižší míře změn genové exprese ve striatu ve srovnání s klasickými antipsychotiky (Leveque et al., 2000; Robertson et al., 1994; Robertson a Fibiger, 1996). Tím by mohl být vysvětlen vyšší terapeutický efekt v jemnějších dimenzích psychopatologie (negativní, kognitivní event. emocionální příznaky). Ovlivnění synaptické plasticity antipsychotiky posouvá terapii blíže ke kauzálnímu léčebnému ovlivnění předpokládaných příčin schizofrenní psychózy. Zda antipsychotika mohou, podobně jako antidepresiva, indukovat také neurogenezi (vznik nových neuronů) u dospělých jedinců, je doposud otevřená otázka (Dawirs et al., 1998; Duman et al., 1999; Konradi a Heckers, 2001; Malberg et al., 2000).

5. kapitola – Cíle diplomové práce

5.1 Cíle diplomové práce

Prvním obecným cílem diplomové práce byla validace glutamátergního farmakologického animálního modelu schizofrenii podobného chování ovlivňujícího lokomoci a prostorovou orientaci potkana. Druhým cílem bylo srovnání vlivu antipsychotických látek (haloperidol, risperidon a ritanserin) na chování laboratorních zvířat v úloze AAPA.

5.2 Ovlivnění kognitivních funkcí systémovou aplikací MK-801 jako animální model schizofrenie

Glutamátový model schizofrenie založený na aplikaci MK-801 byl navržen mj. nositelem Nobelovy ceny za popis dopaminu jako neuropřenašeče, Arvidem Carlssonem v roce 1989 (Carlsson a Carlsson, 1989). MK-801 je nekompetitivní antagonist NMDA podtypu glutamátových receptorů. Systémová aplikace látky MK-801 jako animální model schizofrenii podobného chování dle dostupné literatury způsobuje u laboratorních potkanů hyperlokomoci, deficit prepulzní inhibice úlekové reakce, poškození sociálního chování a zhoršení prostorové orientace, paměti a vybavování.

Cílem aplikace různých dávek MK-801 bylo potvrdit dizocilpinem indukovanou hyperlokomoci a deficit prostorové orientace v úloze AAPA, která zatím není příliš rozšířená a může poskytnout výsledky, které jiné laboratoře používající jiné úlohy nemohou ověřit.

5.3 Vliv antipsychotických látek na chování laboratorních zvířat v úloze AAPA

Použité antipsychotické látky jako haloperidol, risperidon a ritanserin, byly aplikovány samotně, nebo společně s látkou MK-801. Haloperidol je antagonist D₂ receptorů a patří do skupiny klasických antipsychotik. Risperidon je benzisoxazol. Jedná se o antipsychotikum blokující serotoninové a dopaminové receptory (SDA), antagonizuje rovněž α-adrenergní receptory a H₁ receptory. D₂ receptory blokuje v limbické a tuberoinfundibulární oblasti. Oproti antipsychotikům první generace je předností risperidonu lepší snášenlivost i klinická účinnost. Profil nežádoucích účinků je příznivější než pro haloperidol. Ritanserin, antagonist 5-HT_{2A/2C} receptorů, není v klinické praxi jako

antipsychotikum užíván, avšak blokáda 5HT₂ receptorů může hrát roli v pozitivním léčebném ovlivnění kognitivních symptomů psychóz atypickými antipsychotiky.

Cílem práce bylo ukázat význam blokády D2 a 5HT₂ receptorů v ovlivnění schizofrenii podobného chování.

6. kapitola – Experimentální část

6.1 Materiál a metodika

6.1.1. Zvířata

Pokusnými zvířaty byli naivní dospělí samci potkanů *Rattus norvegicus* L. kmene Wistar. Zvířata ve stáří 2-3 měsíce o hmotnosti 250-300 g pocházela z inbredního bezpatogenového (*specific pathogen-free - SPF*) chovu firmy Bioteck v Konárovicích. Všechna zvířata byla chována v příručním zvěřinci odd. Neurofyziologie paměti, Fyziologického ústavu, ve standardních podmínkách ve světelném režimu 12h světlo/12h tma (světla se rozsvěcovala v 7,00) s volným přístupem k vodě a potravě. Všechny experimenty byly schváleny etickou komisí Fyziologického ústavu a byly provedeny v souladu se zákonem 246/1992 Sb. Na ochranu zvířat proti týrání a ve smyslu znění vyhlášky 311/1997 Sb.

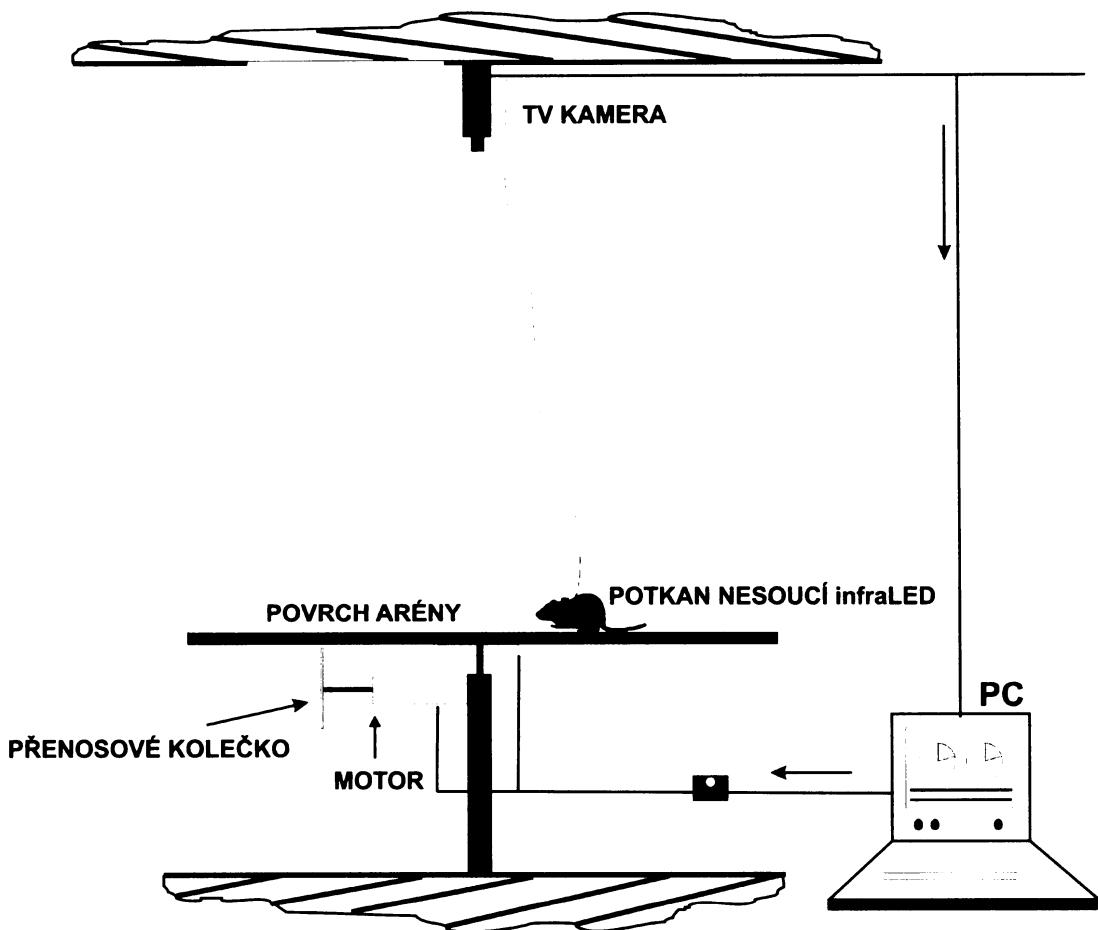
6.1.2. Chemikálie a farmakologické manipulace

Potkanům byla 20 minut před pokusem injikována intraperitoneálně (i.p.) účinná látka MK-801 (dizocilpin, Sigma Aldrich, Česká republika) v koncentracích 0,1 0,2 a 0,3 mg/ml, ředěných izotonickým roztokem NaCl a podávaných v dávkách 0,1 0,2 a 0,3 mg/kg (tabulka č.1). Kontrolním zvířatům bylo podáno ekvivalentní množství izotonického roztoku NaCl (1 ml/kg). Injikovaný objem tekutiny byl tedy relativně stejný pro všechna zvířata.

Dalším skupinám byl aplikován haloperidol – antagonista D₂ receptorů v koncentraci 0,1 mg/kg, risperidon – antagonista D₂ a 5-HT_{2A/2C} byl aplikován v koncentraci 1 mg/kg a ritanserin – antagonista 5-HT_{2A/2C} 2,5 mg/kg. Všechny antipsychotické látky byly aplikovány subkutánně (s.c.) jednu hodinu před pokusem. Látky byly předrozpuštěny v ledové kyselině octové a posléze byl roztok rozředěn 5% roztokem glukózy. Uvedené koncentrace odpovídají literaturou doporučovaným dávkám pro pokusy na laboratorních zvířatech.

6.1.3. Behaviorální testování

Potkani byli podrobeni úloze aktivního allohetického vyhýbání se místu (*AAPA – active allothetic place avoidance*). Zařízení AAPA se skládalo z hladké kovové kruhové arény (80 cm v průměru) obklopené 30 cm vysokou stěnou z plexiskla, která bránila potkanovi uniknout z arény a zároveň mu zajistila dobrou viditelnost okolí arény. Aréna byla ve výšce 1 m nad zemí v místnosti o velikosti 4 m × 5 m. Místnost obsahovala velké množství mimoarénových orientačních bodů (poličky, okno, stůl, dveře). Nad arénou byla zavěšena kamera zachycující infračervené světlo, která poskytovala informaci o pozici zvířete na obrazovce počítače. Na vnější straně arény byla umístěna infračervené světlo emitující dioda (light-emitting diode, LED), která se otáčela společně s arénou a umožňovala sledovat na obrazovce počítače pohyb arény a pozici potkana vzhledem k povrchu arény a/nebo vnějším orientačním bodům. Pozice zvířete a vyznačení šokové výseče (60° výseč) na obrazovce počítače bylo umožněno sledovacím programem iTrack (Bio-Signal Group, DE, USA) zaznamenávajícím trajektorii zvířete. Na začátku každého sezení byl potkan umístěn na aréně do sektoru naproti sektoru šokovému. Potkanovi byl kolem trupu nasazen latexový pásek, na který byla nalepena světlíkující dioda (*light - emitting diode - LED*). Poté se spustil pomocí počítače sledovací program a aréna rotovala rychlosť 1 otáčky za minutu (1 rpm). Sledovací systém zaznamenával pozici potkana každých 40 ms a ukládal ji do souboru k pozdější off-line analýze (TrackAnalysis; Bio-Signal Group, DE, USA). Kdykoliv potkan vstoupil do zakázané oblasti na více než 0,5 s, sledovací systém vydal šok a započítal vstup. Pokud potkan neopustil sektor, dostal každých 1,5 s šok, ale vstupy se nezapočítávaly dokud potkan neopustil šokový sektor na více než 0,5 s. Mírný šok (50 Hz, 0,5 s, 0,4-0,7 mA) dostal potkan stojící na uzemněné aréně přes tenký podkožní nízkoodporový konektor. Velikost šokového proudu byla pro každého potkana individuální, aby bylo dosaženo rychlé únikové reakce, ale ne ustrnutí. Experimentální sezení v AAPA trvalo 20 minut a každý potkan podstoupil denně jedno sezení. Celkem trval experiment s každou skupinou skládající se z osmi potkanů čtyři dny. Povrch arény byl po každém zvířeti vyčištěn, takže každý potkan mohl použít pouze své pachové značky. Po skončení pokusu byli potkani vráceni do chovné místnosti.



Obr. 3: Schéma experimentálního uspořádání. Potkan se pohyboval po kruhovité otáčivé aréně a nesl na sobě infračervenou diodu, která byla snímána TV kamerou umístěnou nad arénou. Druhá infračervená dioda byla umístěna na aréně a signalizovala zpracujícímu počítačovému systému otáčivý pohyb arény. Trajektorie zvířete byla zaznamenávána do počítačového souboru. Počítačový systém byl schopen vykreslit trajektorii zvířete jak v souřadnicích místnosti, tak v souřadnicích otáčející se arény. Po vstupu do zakázané oblasti byl přiveden po kabelu vedoucím ke zvířeti elektrický impulz, který procházel od drátku implantovaného v podkoží potkana do uzemněné podlážky. Experimentální sezení trvalo 20 minut, během nichž byla intaktní zvířata schopna se velmi dobře naučit oblast rozpoznat a vyhýbat se jí. U ostatních skupin byl zaznamenán deficit ve schopnosti řešit tuto úlohu.

6.1.4. Rozvržení experimentálních skupin

Každou experimentální i kontrolní skupinu tvořilo osm potkanů. Celkem bylo do práce zařazeno 11 skupin zvířat:

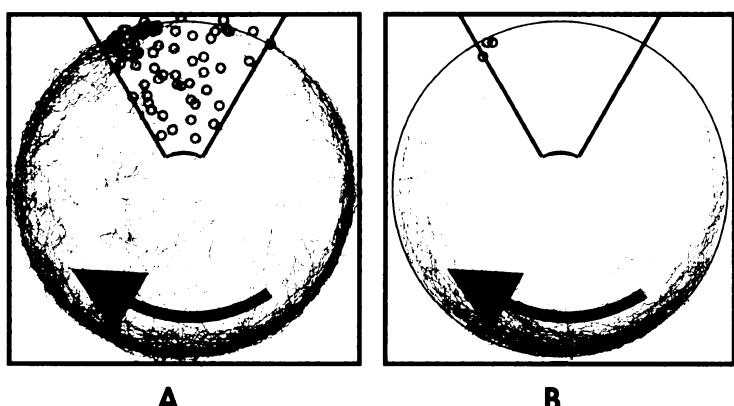
Tabulka č.1

	Aplikovaná látka (název skupiny)
1. skupina	KONTROLY 1 ml/kg izotonického roztoku NaCl
2. skupina	MK-801 0,1 mg/kg
3. skupina	MK-801 0,2 mg/kg
4. skupina	MK-801 0,3 mg/kg
5. skupina	HALOPERIDOL 0,1 mg/kg
6. skupina	RISPERIDON 1 mg/kg
7. skupina	RITANSERIN 2,5 mg/kg
8. skupina	HALOPERIDOL 0,1 mg/kg + MK-801 0,1 mg/kg
9. skupina	RISPERIDON 1 mg/kg + MK-801 0,1 mg/kg
10. skupina	RITANSERIN 2,5 mg/kg + MK-801 0,1 mg/kg
11. skupina	RITANSERIN 2,5 mg/kg + MK-801 0,1 mg/kg + HALOPERIDOL 0,1 mg/kg

6.1.5. Hodnocené parametry

Měřenými a hodnocenými parametry byly **celková dráha** ušlá potkanem během sezení, vyjadřující lokomoční aktivitu, která může být považována za analogii pozitivním symptomům schizofrenie. **Počet vstupů do zakázané-šokové oblasti** odrážející schopnost řešení úlohy AAPA a posledním hodnoceným parametrem byla **maximální doba**, po kterou se potkan **vyhýbal šokovému sektoru**, odrážející schopnost zapamatování a vybavení si prostorového umístění této oblasti.

Každé zvíře bylo testováno čtyři po sobě jdoucí dny jedenkrát denně po dobu 20 minut. Aplikovány byly výše uvedené látky. Záznam dráhy pohybu potkana po kruhovité aréně v úloze AAPA ukazuje následující obrázek (Obr.4).



Obr. 4
A – záznam dráhy pohybu potkana farmakologicky ovlivněného MK-801 (neschopného se orientovat v úloze AAPA)
B – záznam dráhy pohybu potkana vytrénovaného, farmakologicky neovlivněného a tedy schopného se orientovat v úloze AAPA

6.1.6. Analýza dat a statistika

Data z experimentu zkoumajícího vliv MK-801 na lokomoci a prostorové chování z experimentu s antipsychotiky byla analyzována odděleně.

Za jednotlivá sezení byl u každé skupiny stanoven aritmetický průměr a rozptyl měřený jako střední chyba průměru (S.E.M.), které byly posléze vyneseny do grafů.

Rovněž byl u každé skupiny stanoven průměr a jeho střední chyba za všechna čtyři sezení.

Do grafů byly pro přehlednost zvlášť vyneseny výsledky vlivu MK-801 ve srovnání s kontrolami, a v oddíle věnovaném antipsychotikům byl vynesen efekt samotných antipsychotik vs. kontrolní potkani, a v následujícím grafu efekt antipsychotik společně s MK-801.

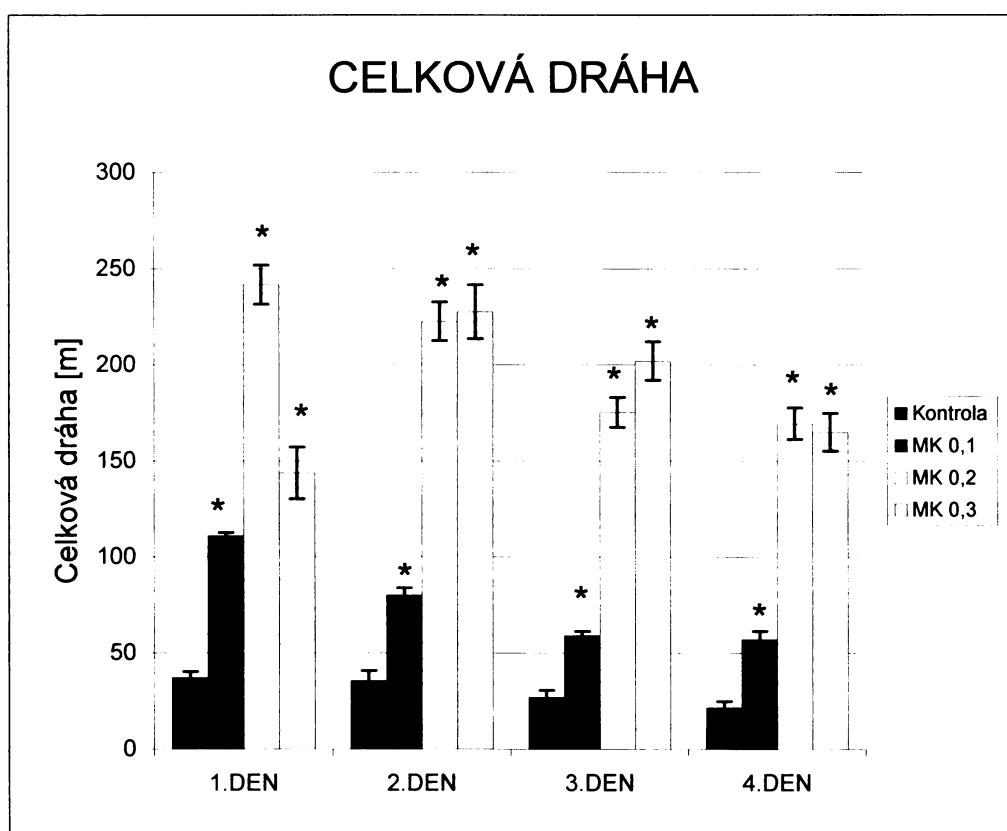
Data byla posléze vyhodnocena dvoufaktorovou analýzou rozptylu (faktory: Sezení x Skupina). Pokud byl zjištěna přítomnost signifikance faktoru Skupina, byly specifické rozdíly mezi jednotlivými skupinami testovány na statistickou významnost pomocí Newman-Keulsova post-hoc testu. Za signifikantní byl považován výsledek na hranici 5%. Post-hoc testem byly testovány rozdíly mezi antipsychotiky samotnými a kontrolami, a následně rozdíly mezi společně aplikovanými antipsychotiky a MK-801 vs. samotné MK-801. Tato analýza byla provedena s cílem zjistit, zda aplikace antipsychotik společně s MK-801 zmírní změny chování navozené samotným MK-801.

7. kapitola – Výsledky

7.1. Vliv MK-801 na lokomoční aktivitu v úloze AAPA

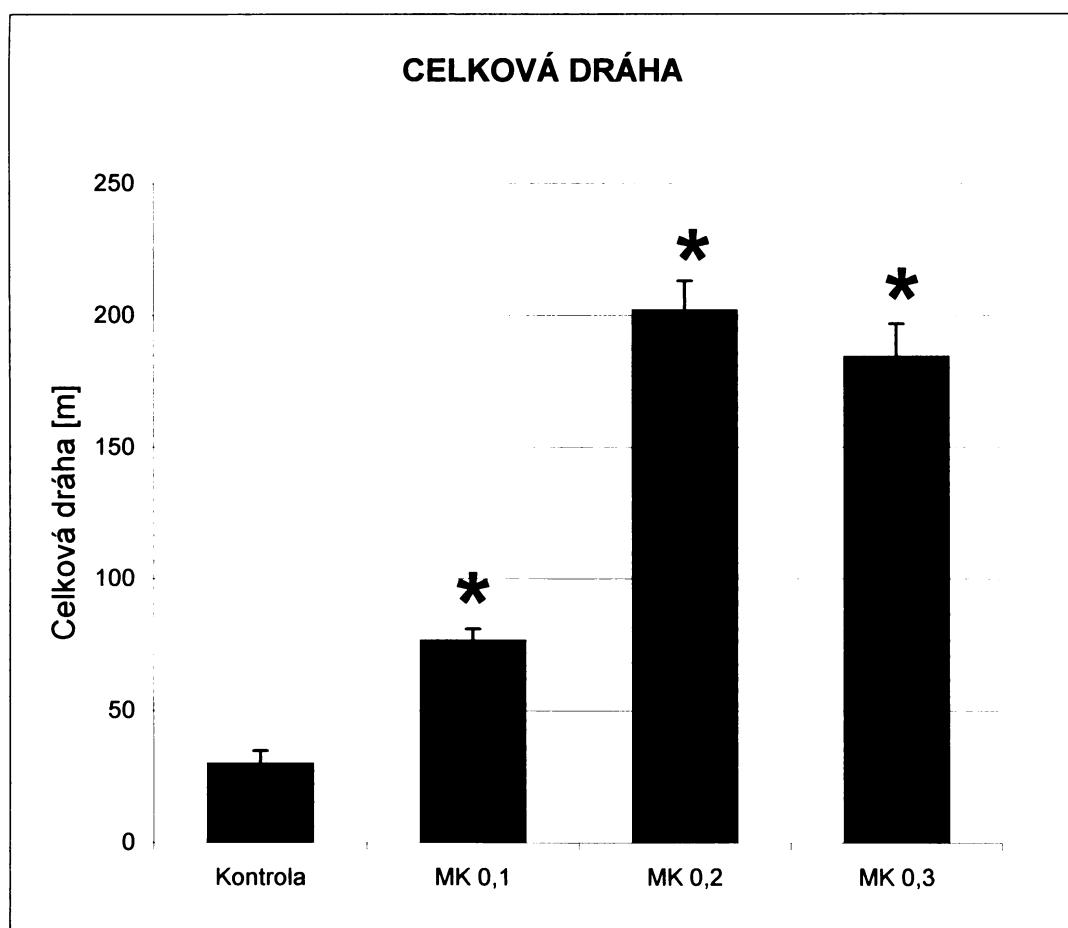
Analýza celkové dráhy po aplikaci MK-801 ukázala, že MK-801 statisticky významně zvýšilo lokomoční aktivitu, a to ve všech použitých dávkách. Zatímco nižší dávka (0,1 mg/kg) zvýšila celkovou ušlou dráhu na zhruba dvojnásobek, vyšší dávky (0,2 a 0,3 mg/kg) několikanásobně prodloužily ušlou dráhu. Rozdíl mezi skupinami s MK-801 a kontrolami byl potvrzen dvoufaktorovou analýzou rozptylu (Skupina x Sezení) a následným post-hoc testem.

Vliv MK-801 na lokomoční aktivitu v úloze AAPA v jednotlivých denních sezeních



*Graf. 1 Graf lokomoční aktivity zobrazené pro jednotlivé dny. Na ose Y jsou vyneseny průměry ± S.E.M. Zobrazeny jsou čtyři skupiny zvířat, každá po 8 potkanech: 1)kontrola 2)MK-801 v dávce 1 mg/kg 3)MK-801 v dávce 0,2 mg/kg a 4)MK-801 v dávce 0,3 mg/kg. * P < 0.05 ve srovnání s kontrolami.*

Vliv MK-801 na lokomoční aktivitu v úloze AAPA – souhrnná data za všechna denní sezení

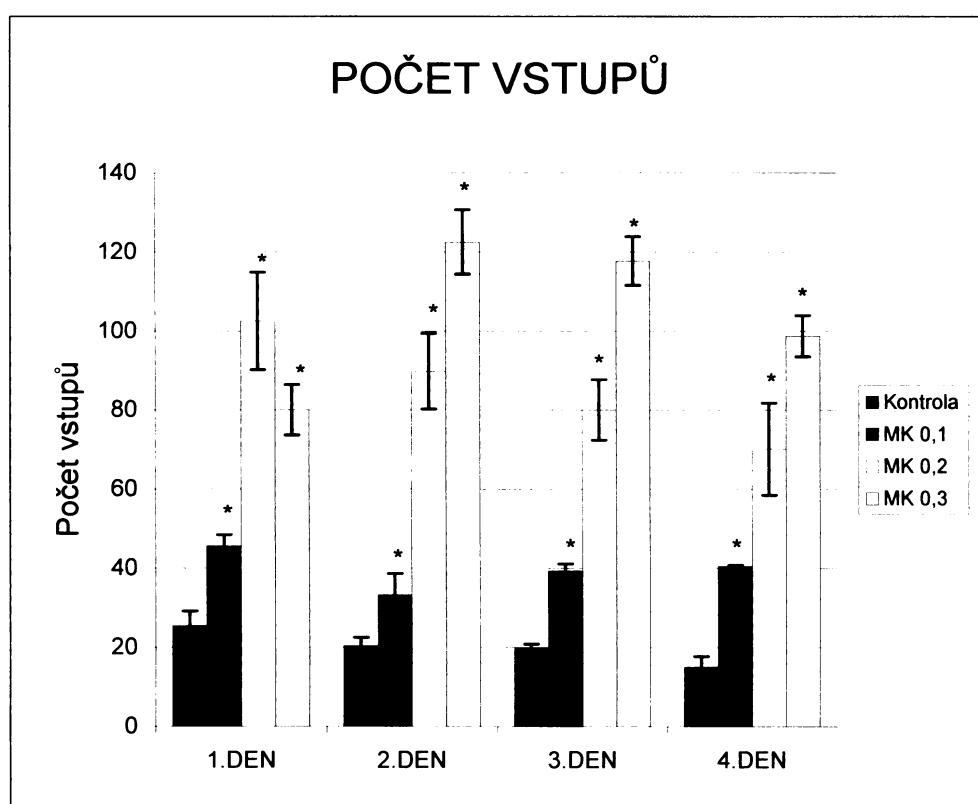


*Graf 2. Graf celkové lokomoční aktivity pro kontroly a zvířata po aplikaci různé dávky látky MK-801 za všechny čtyři dny dohromady. Na ose Y jsou vyneseny průměry ± S.E.M. * P < 0.05 ve srovnání s kontrolami.*

7.2. Vliv MK-801 na počet vstupů do zakázané oblasti v úloze AAPA

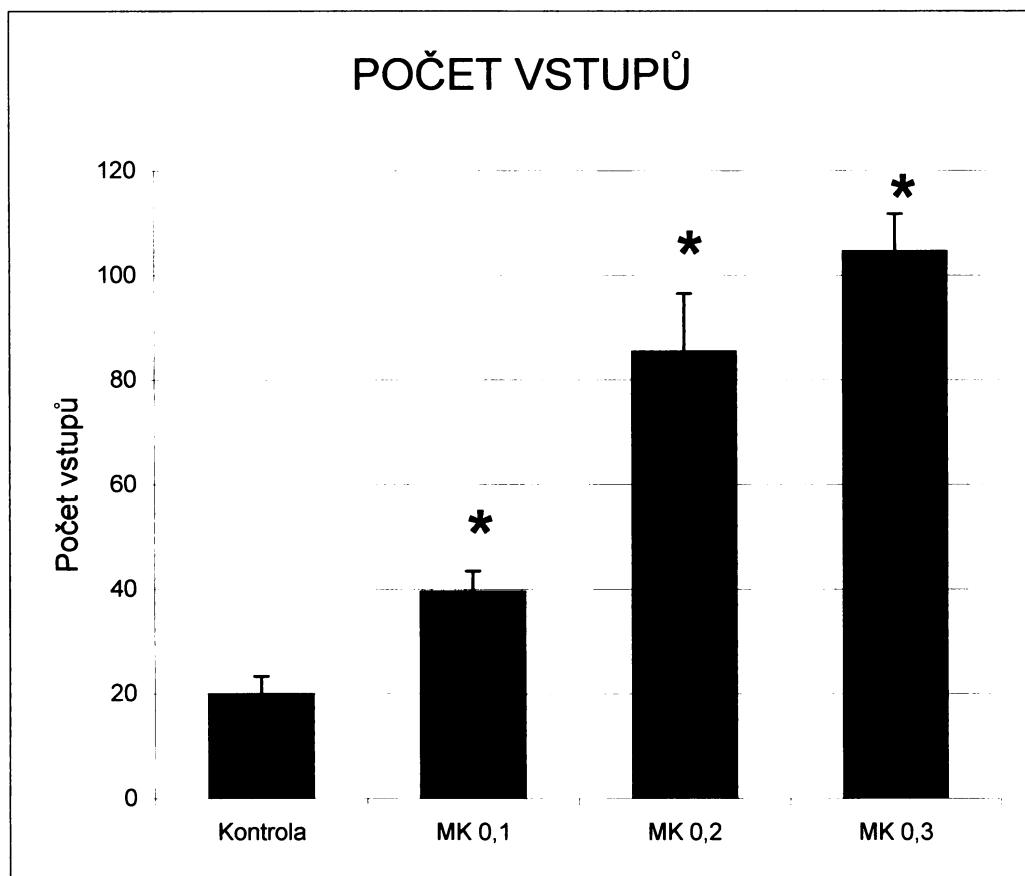
Analýza počtu vstupů po aplikaci MK-801 ukázala, že MK-801 statisticky významně zvýšilo počty chybných vstupů do zakázané oblasti, a to ve všech použitých dávkách. Zatímco nižší dávka (0,1 mg/kg) zvýšila počet chyb na zhruba dvojnásobek, vyšší dávky (0,2 a 0,3 mg/kg) zvýšily počet chyb velmi markantně. Rozdíl mezi skupinami s MK-801 a kontrolami byl potvrzen dvoufaktorovou analýzou rozptylu (Skupina x Sezení) a následným post-hoc testem.

Vliv MK-801 na počet vstupů do zakázané oblasti v úloze AAPA v jednotlivých denních sezeních



Graf 3. Graf ukazující počet chyb – počet vstupů do šokové oblasti v jednotlivých dnech testování. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. Zobrazeny jsou 4 skupiny zvířat: 1) Kontrola 2) MK-801 v dávce 0,1 mg/kg 3) MK-801 0,2 mg/kg 4) MK-801 0,3mg/kg. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.

**Vliv MK-801 na počet vstupů do zakázané oblasti v úloze AAPA – souhrnná
data za všechna denní sezení**

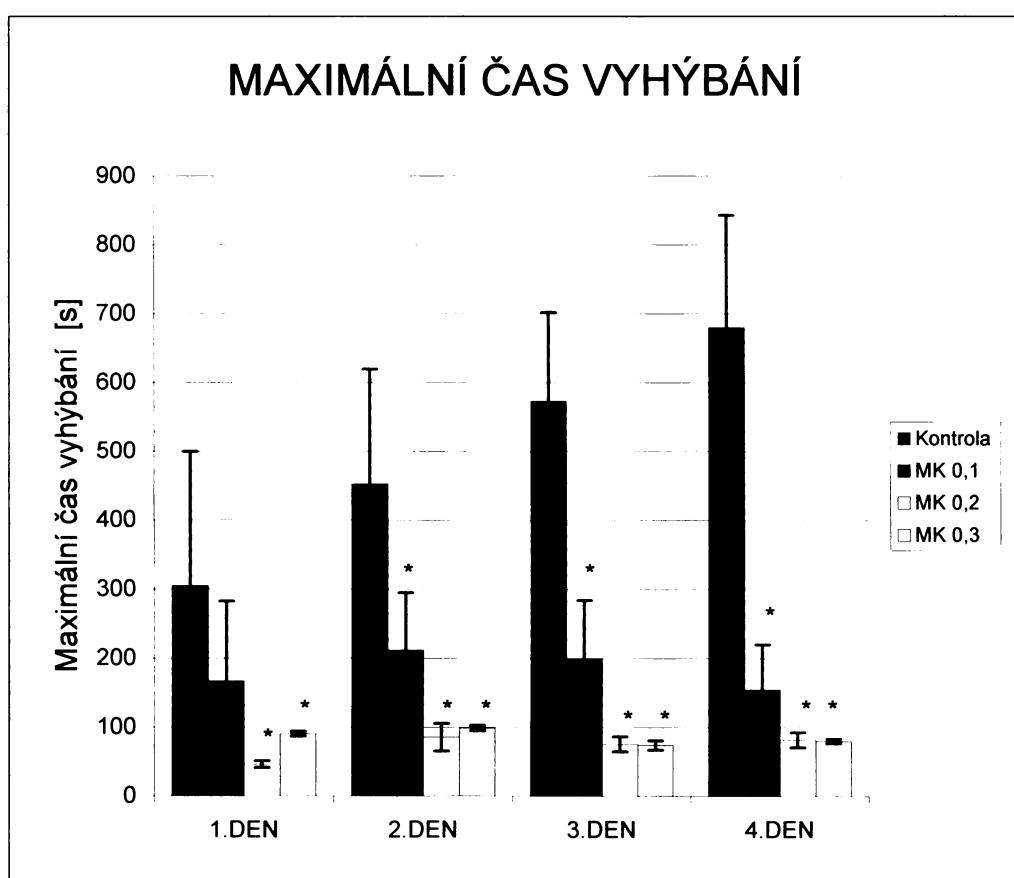


*Graf 4. Graf vlivu MK-801 v různých koncentracích na počet chybných vstupů do šokové oblasti. Na ose Y jsou vneseny průměry \pm S.E.M. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.*

7.3. Vliv MK-801 na maximální čas vyhýbání v úloze AAPA

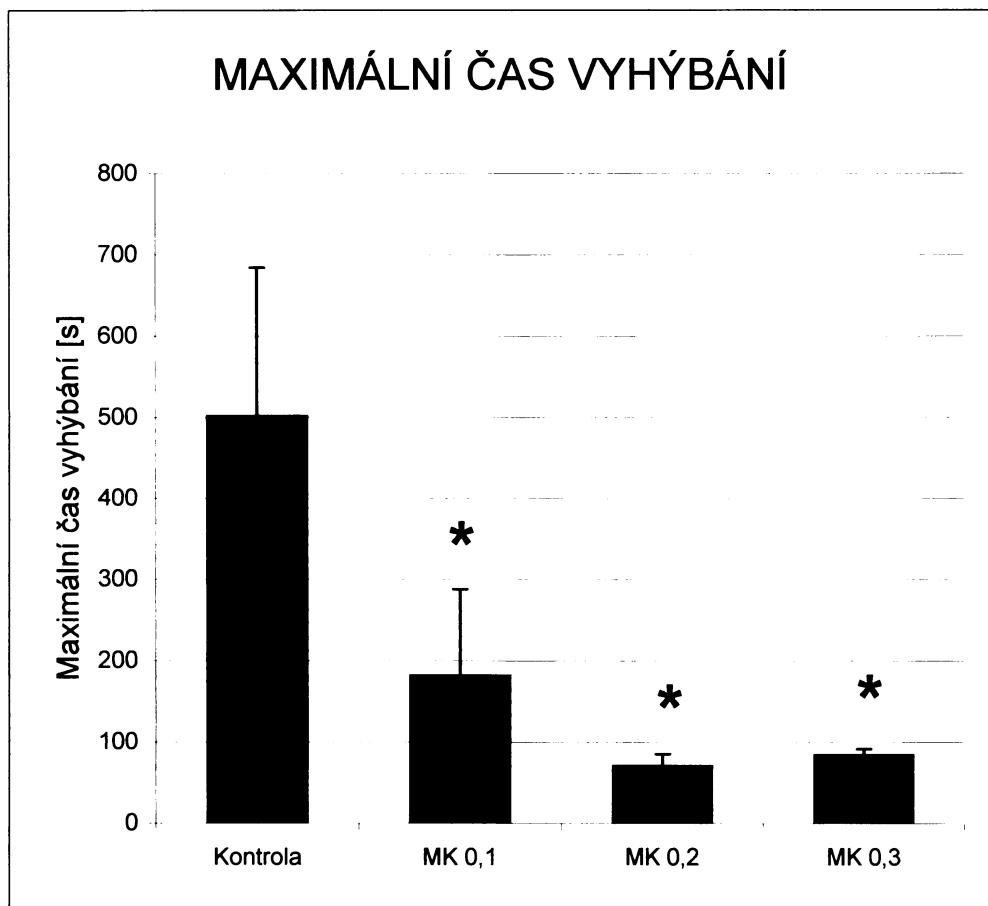
Analýza maximálního času vyhýbání po aplikaci MK-801 ukázala, že MK-801 statisticky významně snížilo dobu, po kterou se potkani byli schopni vyhýbat šokové oblasti, a to ve všech použitých dávkách. Rozdíl mezi skupinami s MK-801 a kontrolami byl potvrzen dvoufaktorovou analýzou rozptylu (Skupina x Sezení) a následným post-hoc testem.

Vliv MK-801 na maximální čas vyhýbání v úloze AAPA v jednotlivých denních sezeních



Graf 5. Graf vlivu MK-801 na maximální čas vyhýbání se šokovému sektoru v jednotlivých dnech pro 4 skupiny zvířat: 1)kontrola 2)zvířata s nejnižší dávkou MK-801 0,1 mg/kg 3)MK-801 v dávce 0,2 mg/kg a 4)MK-801 v nejvyšší použité dávce 0,3mg/kg. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. * P < 0,05 ve srovnání s kontrolami.

Vliv MK-801 na maximální čas vyhýbání v úloze AAPA – souhrnná data za všechna denní sezení

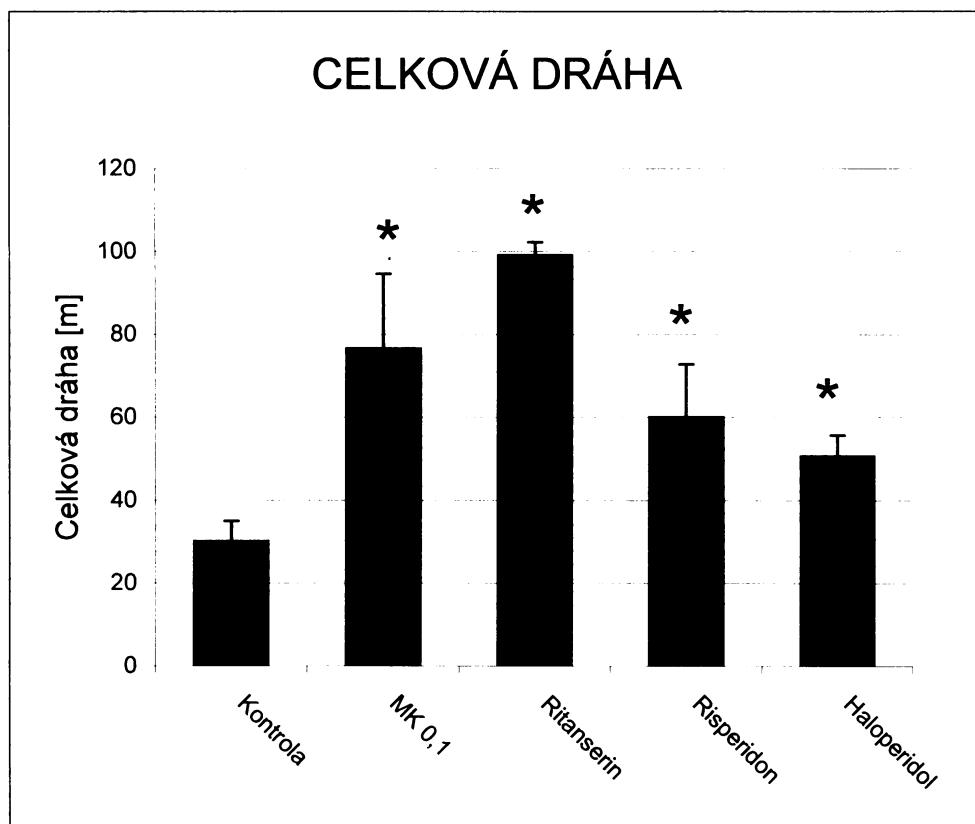


*Graf 6. Graf vlivu MK-801 na maximální čas strávený mimo šokovou oblast, vyjadřující schopnost lokalizovat a vyhýbat se zakázané oblasti. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.*

7.4 Vliv antipsychotických látek na lokomoci v úloze AAPA

Analýza lokomoční aktivity ukázala, že aplikace samotných antipsychotik (bez MK-801) vedla u všech skupin ke zvýšení lokomoční aktivity oproti kontrolním potkanům, jimž byl aplikován fyziologický roztok. Největší nárůst byl pozorován po aplikaci samotného ritanserINU, který způsobil v tomto parametru největší zvýšení lokomoční aktivity oproti kontrolním potkanům. Analýza rozptylu a následný Newman-Keulsův test prokázal, že po aplikaci MK-801, risperidonu, ritanserINU a haloperidolu došlo ke zvýšení lokomoční aktivity, a to konzistentně po celou dobu tréninku ($P < 0.05$).

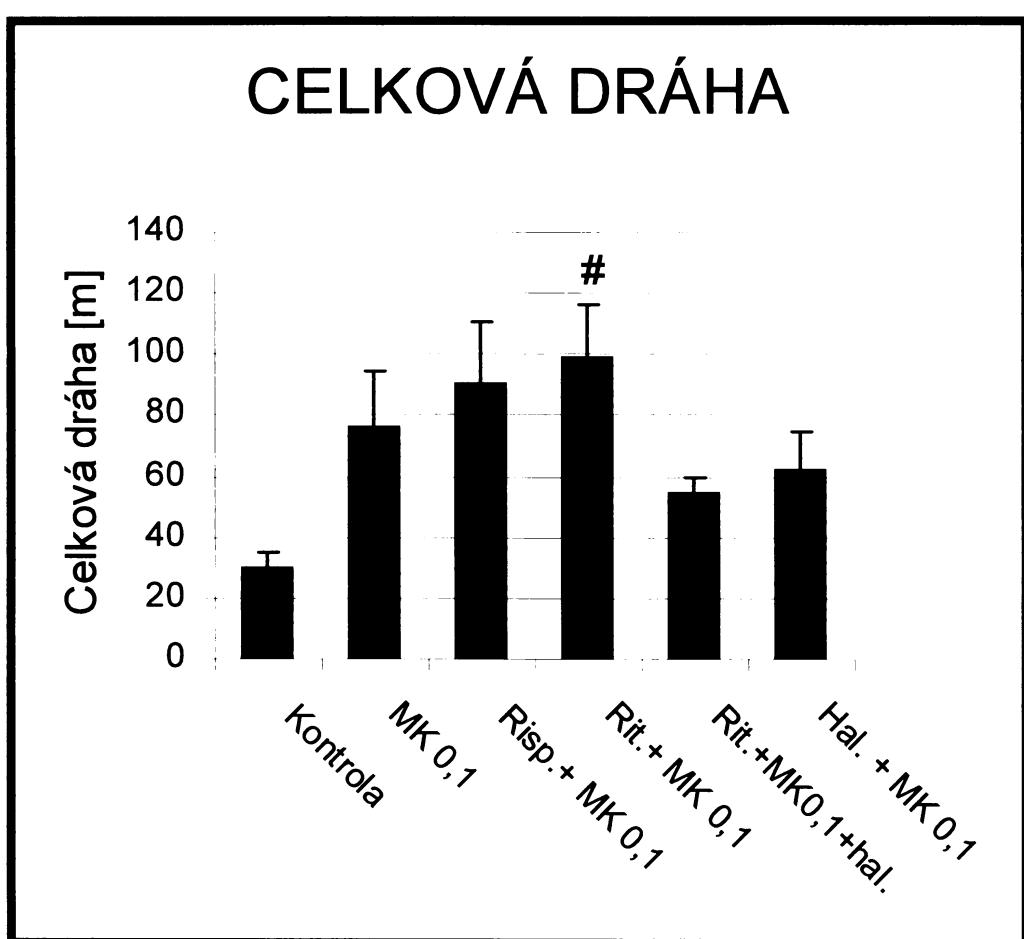
Vliv samotných antipsychotik na lokomoci ve srovnání s kontrolami



Graf 7. Graf vlivu MK-801, ritanserINU, risperidonu a haloperidolu na celkovou lokomoční aktivitu. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.

Pokud byla antipsychotika aplikována společně s MK-801 a jejich efekt byl srovnán se samotným MK-801, ukázalo se, že ko-aplikace antipsychotik s MK-801 nesnížila lokomoci potkanů vzhledem ke zvířatům jimž byl aplikován samotný dizocilpin ($P > 0.05$), naopak ko-aplikace ritanserinu s MK-801 signifikantně zvýšila lokomoci oproti samotnému dizocilpinu. (podle analýzy rozptylu a post-hoc testu; $P < 0.05$)

Vliv antipsychotik ko-aplikovaných s MK-801 na lokomoci ve srovnání se samotným MK-801

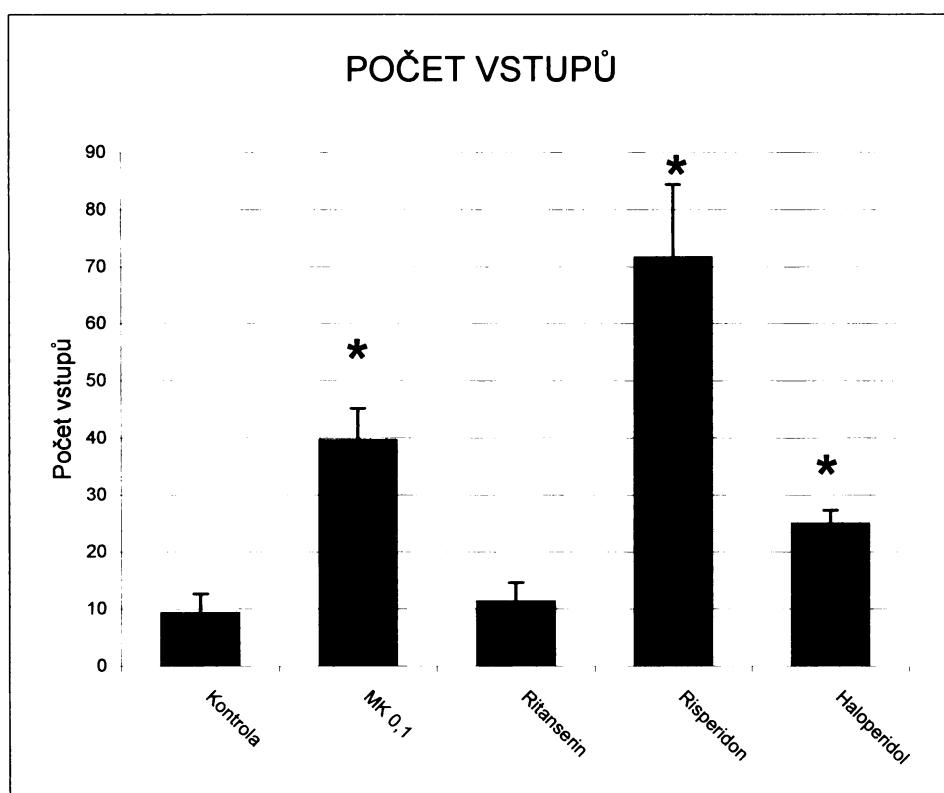


Graf 8. Graf vlivu koaplikace látky MK-801 společně s risperidonem, ritanserinem a haloperidolem. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. # $P < 0.05$ ve srovnání s MK-801 0.1 mg/kg.

7.5 Vliv antipsychotických látek na počet vstupů do zakázané oblasti

Analýza počtu chyb ukázala, že aplikace samotných antipsychotik (bez MK-801) vedla ke zhoršení v tomto parametru oproti kontrolním potkanům, jimž byl aplikován fyziologický roztok. Výjimkou byl samotný ritanserin, který se statisticky významně neliší v tomto parametru oproti kontrolní skupině potkanů. Naopak největší nárůst počtu chyb byl zaznamenán po aplikaci risperidonu, přičemž toto zvýšení bylo několikanásobné. Analýza rozptylu a následný Newman-Keulsův test prokázal, že po aplikaci risperidonu a haloperidolu došlo ke zvýšení počtu vstupů do zakázané oblasti, a to konzistentně po celou dobu tréninku ($P < 0.05$).

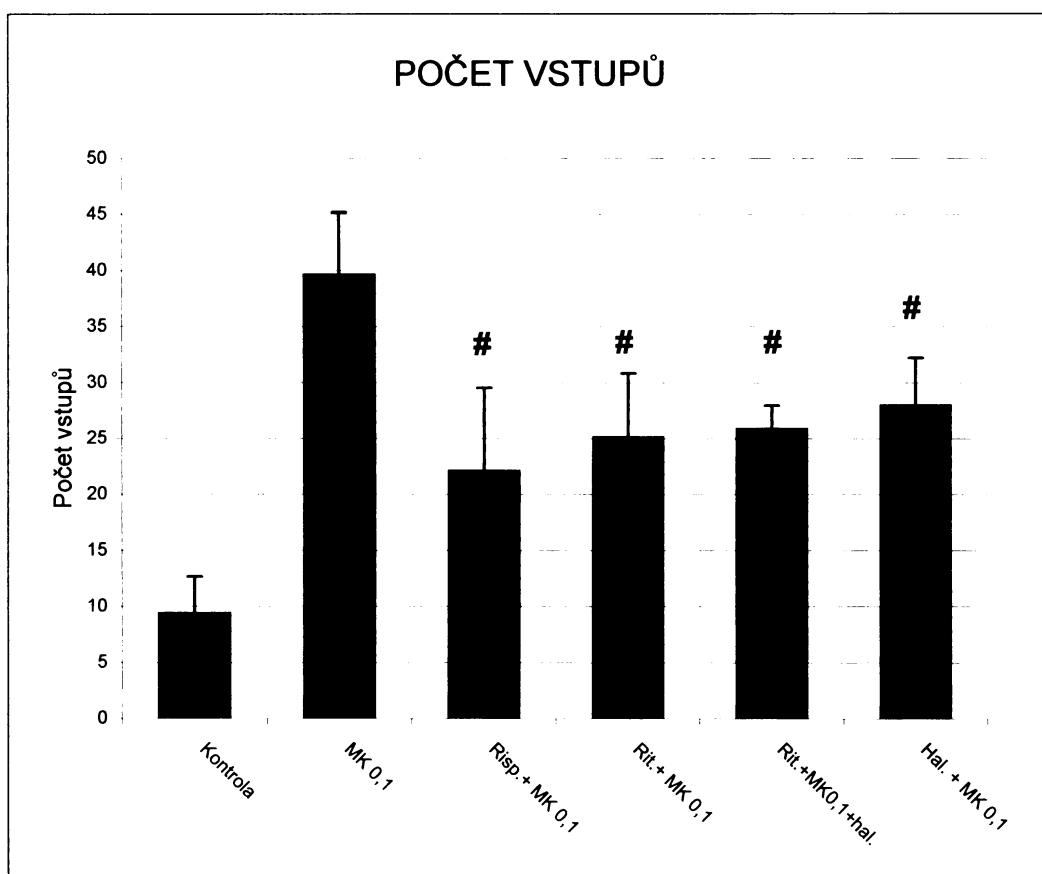
Vliv antipsychotik samotných na počet vstupů do zakázané oblasti



Graf 9. Graf vlivu samotných antipsychotik na celkový počet vstupů. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.

Pokud byla antipsychotika aplikována společně s MK-801 a jejich efekt byl srovnán se samotným MK-801, ukázalo se, že ko-aplikace antipsychotik s dizocilpinem zlepšila výkon potkanů v tomto parametru vzhledem ke zvířatům jimž byl aplikován samotný dizocilpin ($P < 0.05$), avšak toto zmírnění kognitivního deficitu nedosáhlo úrovně kontrolních zvířat s fyziologickým roztokem, od kterých se potkani s ko-aplikovaným MK-801 a antipsychotiky rovněž lišili. (podle analýzy rozptylu a post-hoc testu; $P < 0.05$).

Vliv antipsychotik koaplikovaných s MK-801 na počet vstupů do zakázané oblasti ve srovnání se samotným MK-801

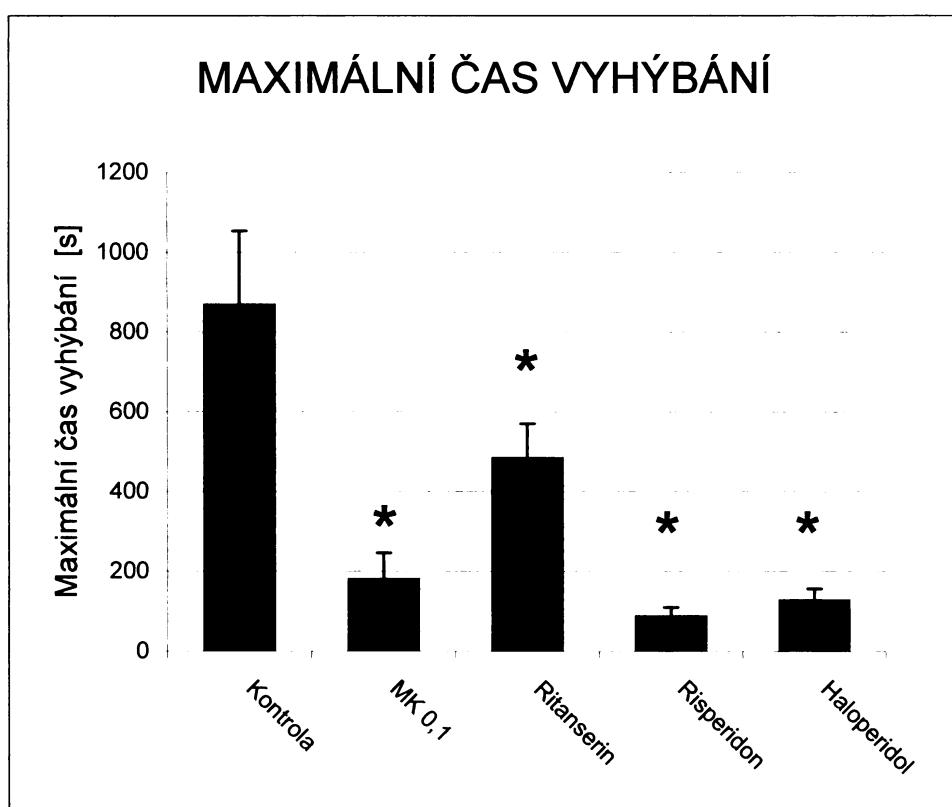


Graf 10. Graf vlivu koaplikace antipsychotických látek a MK-801 na celkový počet vstupů. Na ose Y jsou vneseny průměry \pm S.E.M. # $P < 0.05$ ve srovnání s MK-801 0.1 mg/kg.

7.6 Vliv antipsychotických látek na maximální čas vyhýbání

Analýza maximálního času vyhýbání ukázala, že aplikace samotných antipsychotik (bez MK-801) vedla ke zhoršení v tomto parametru oproti kontrolním potkanům, jimž byl aplikován fyziologický roztok, přičemž nejmenší, avšak přesto signifikantní zhoršení bylo zjištěno po aplikaci ritanserinu. Analýza rozptylu a následný Newman-Keulsův test prokázal, že po aplikaci risperidonu, ritanserinu a haloperidolu došlo ke snížení maximálního času vyhýbání, a to konzistentně po celou dobu tréninku ($P < 0.05$).

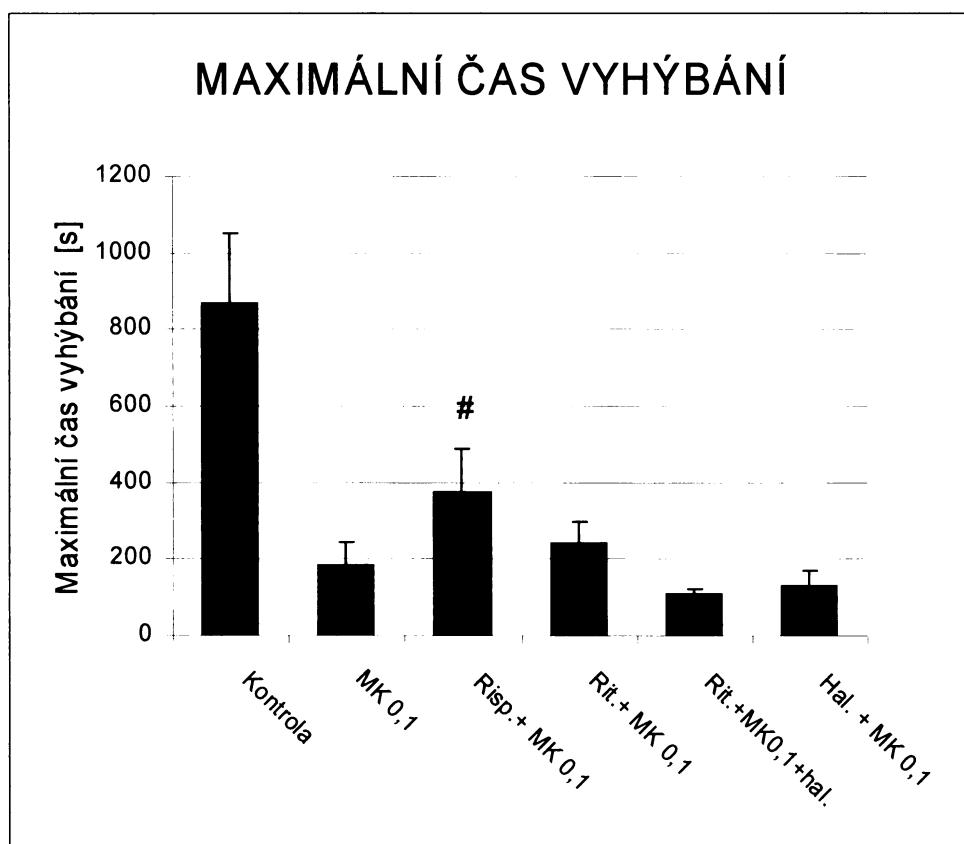
Vliv antipsychotik samotných na maximální čas vyhýbání



Graf 11. Graf vlivu samotných antipsychotických látek na maximální čas vyhýbání. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. * $P < 0.05$ ve srovnání s kontrolami.

Pokud byla antipsychotika aplikována společně s MK-801 a jejich efekt byl srovnán se samotným MK-801, ukázalo se, že pouze ko-aplikace risperidonu s dizocilpinem zlepšila výkon potkanů v tomto parametru vzhledem ke zvířatům jímž byl aplikován samotný dizocilpin ($P < 0.05$), avšak toto zmírnění kognitivního deficitu nedosáhlo úrovně kontrolních zvířat s fyziologickým roztokem, od kterých se potkani s ko-aplikovaným MK-801 a antipsychotiky rovněž lišili. (podle analýzy rozptylu a post-hoc testu; $P < 0.05$)

Vliv antipsychotik koaplikovaných s MK-801 na maximální čas vyhýbání ve srovnání se samotným MK-801



Graf 12. Graf vlivu koaplikace antipsychotik a MK-801 na maximální čas vyhýbání. Na ose Y jsou vyneseny průměry \pm S.E.M. # $P < 0.05$ ve srovnání s MK-801 0.1 mg/kg.

8. kapitola – Diskuse

8.1 Vliv MK-801 na lokomoci a prostorové chování

Kognitivní deficit hraje klíčovou úlohu v duševních onemocněních jakým je například i schizofrenie. S velkou pravděpodobností zahrnuje změny glutamátové signalizace v různých oblastech mozku, zprostředkované mimo jiné glutamátovými NMDA receptory. U potkanů antagonisté NMDA receptorů zvyšují lokomoční aktivitu, indukují jednoduché a nediferencované modely chování, které jak předpokládáme odpovídají některým kognitivním deficitům nalézaných u pacientů se schizofrenií (Nilsson, 2006).

Předkládaná diplomová práce ukazuje, že aplikace MK-801 ve všech sledovaných dávkách poškozuje prostorové chování a zvyšuje lokomoční aktivitu v úloze AAPA. Je namísto poznamenat, že dizocilpinem indukovaná hyperlokomoce by se mohla významně podílet i na deficitu prostorové orientace, kdy by zvýšení lokomoce mohlo jako „vedlejší produkt“ poškodit rovněž efektivitu řešení dané prostorové úlohy.

Na druhou stranu, některé látky, které způsobují nadměrnou lokomoci, zachovávají nepoškozené prostorové chování, jak bylo ukázano např. v případě agonisty D2 receptorů quinpirolu (Stuchlik et al., 2007, v tisku). To naznačuje, že deficit v prostorové orientaci se po aplikaci MK-801 objevuje paralelně s nadměrnou lokomoci.

Kognitivní deficit a zvýšení lokomotorické aktivity pozorované v mojí práci jsou v souladu s literaturou. Mnohé studie ukazují, že MK-801 způsobuje deficit v úlohách prostorového chování v dávkách přesahujících 0,05 mg/kg (např. Ahlander, et al., 1999). Podání MK-801 u myší způsobuje hyperaktivitu a změny chování, které odpovídají kognitivnímu deficitu pozorovanému u schizofrenie. Testování bylo provedeno na animálním modelu kognitivního deficitu schizofrenie a autismu vyvolaném MK-801. Podání dopaminového stabilizátoru ACR16 tyto projevy potlačilo (Nilsson et al., 2004).

Antagonisté NMDA receptorů zhoršují kognitivní funkce závislé na prefrontálním kortextu. Existují studie potvrzující změny chování po podání MK-801 projevující se lokomoci, stereotypním čicháním a ataxií. Například cílem studie Verma a Moghaddam (1996) bylo ukázat úlohu excitačních aminokyselin a

dopaminových receptorů na asociační funkce prefrontálního kortextu (PFC) u potkanů. Nekompetitivní antagonisté NMDA receptorů ketamin a MK-801 zhoršily chování v T-bludišti oproti kontrolním zvířatům. Podání antagonistů dopaminových receptorů raclopridu, SCH-23390 a haloperidolu nepřineslo signifikantní změny, ale jejich podání společně s ketaminem, vedlo ke snížení počtu chybných řešení s vyjímkou SCH-23390, který tento efekt nevyvolal. (Verma a Moghaddam, 1996).

V nedávné studii Rung a spol. (2005) ukázali, že MK-801 způsobuje také sociální stažení (*social withdrawal*), tedy omezení sociálních interakcí, a tito autoři tedy navrhují, že by aplikace nízkých dávek mohla být považována i za model negativních symptomů schizofrenie mezi které sociální stažení a citová oploštěnost patří.

V souladu s literaturou výsledky diplomové práce ukazují, že aplikace látky MK-801 laboratorním zvířatům zvyšuje lokomoční aktivitu ve všech použitých dávkách v úloze AAPA. Všechny dávky rovněž zvyšují počet chybných vstupů do zakázané oblasti a podobných výsledků bylo dosaženo i v parametru maximálního vyhýbání se místu, kde MK-801 ve všech dávkách snižuje tento čas vyhýbání. Z výše zmíněných výsledků lze uzavřít, že aplikace MK-801 vede ke kognitivnímu deficitu v úloze AAPA a zvýšení lokomoční aktivity, z čehož vyplývá relativně vysoká fenomenologická validita tohoto farmakologického modelu.

Systémové podání glicinu a D-serinu, agonistů glicinového vazebného místa NMDA receptoru, snižuje hyperaktivitu způsobenou MK-801. Intraventrikulární podání D-serinu také tuto hyperaktivitu snižuje, narozdíl od L-serinu, který hyperaktivitu způsobenou MK-801 nesnižuje. Zdá se tedy, že ovlivnění glicinového allosterického místa NMDA receptoru by mohlo představovat účinný způsob, jak zmírnit změny chování navozené MK-801. To naznačuje, že látky interagující s tímto vazebným místem by mohly představovat slibnou skupinu látek s potenciální klinickou účinností. (Nilsson et al., 1997).

8.2 Porovnání účinku antipsychotik v úloze AAPA

Glutamátergní systém je nejdůležitějším excitačním systémem v mozku savců. Je důležitý při vývoji mozku, plasticitě mozku a neurotoxicitě. Řada současných studií ukazuje na poruchu glutamátergní transmise u pacientů se schizofrenií. Látky včetně glutamátu, které aktivují NMDA receptory, jsou u medikovaných pacientů sníženy. Naopak látky, které blokují NMDA receptory, jsou zvýšeny (Bubeníková, 2005). Právě zvýšená hladina glutamátu po haloperidolu ve striatální oblasti může být zodpovědná za rozvoj extrapyramidálního syndromu (Marchese et al., 2002).

Výsledky předkládané diplomové práce ukazují, že aplikace samotných antipsychotik zvyšuje lokomoční aktivitu, přičemž nejvýrazněji se zvýšení lokomoční aktivity projevilo po aplikaci ritanserINU. Naopak aplikace samotného ritanserINU nezhoršuje počet chyb, zatímco aplikace samotného risperidonu i haloperidolu počet chyb zvyšuje. Parametr maximálního vyhýbání se místu byl zhoršen po aplikaci všech samotných antipsychotik.

Studiem vlivu 5-HT₂ antagonisty ritanserINU se zabývala nedávná studie Naghdi et al. (2005). Výsledky intrahipokampální injekce ritanserINU (5-HT_{2A/2C} antagonista) a granisetronu (5-HT₃) do CA1 oblasti hipokampů potkanů 20 minut před podrobením se úloze Morrisova vodního bludiště ukazují, že ritanserin signifikantně snižuje „escape latency“ a uplavanou vzdálenost k ostrůvku, naopak po granisetronu se tyto parametry zvýšily. Tyto výsledky ukazují, na různou úlohu 5-HT₂ a 5-HT₃ receptorů při řešení prostorových úloh (Naghdi, 2005).

Koaplikace antipsychotik a MK-801 přinesla následující výsledky: Aplikace ritanserINU spolu s MK-801 vede ke zvýšení lokomoční aktivity. K analogickým výsledkům dospěli také autoři studie zybývající se interakcí mezi serotoninovými 5-HT_{2c} receptory a glutamátovými NMDA receptory v nc. accumbens (Hutson et al., 2000), ve které antagonist serotoninového 5-HT_{2c} receptoru zvyšoval účinek MK-801 na lokomoci potkana.

Jiná studie uvádí, že na vyrovnaní deficitu PPI způsobené MK-801 je nutné inhibovat oba podtypy serotoninového receptoru (5-HT_{2A} i 5-HT_{2C}). Aplikace samotného ritanserINU neměla vliv na spontánní úroveň PPI, avšak ritanserin v kombinaci s MK-801 statisticky významně zvýšil hodnotu PPI ve

srovnání s MK-801 (Bubeníková, 2005). Tato data významně poukazují na přímé funkční propojení serotonergního systému prostřednictvím serotoninových 5-HT_{2A} receptorů se systémem glutamátergním. Interakci serotoninových 5-HT_{2A} a glutamátových NMDA receptorů potvrzují i některé další nálezy. Například podání agonistů serotoninových 5-HT_{2A} receptorů zvýší glutamátem indukované excitační postsynaptické proudy v prefrontální kůře (Aghajanian a Marek, 1997).

Také několik studií poukazuje na potenciální antipsychotické vlastnosti antagonistů serotoninových 5-HT_{2A} receptorů v animálním modelu schizofrenii podobného chování, včetně zlepšení indukovaného kognitivního deficitu (Mirjana et al., 2004; O'Neill et al., 1999; Martin et al., 1997). Současně i klinické studie ukazují na možné použití antagonistů serotoninových 5-HT_{2A} receptorů v léčbě schizofrenie, a to především v souvislosti se zlepšením přítomného kognitivního deficitu (Potkin et al., 2001).

Naopak aplikace risperidonu s MK-801, nevedla podobně jako aplikace haloperidolu s MK-801 v předkládané práci k signifikantní změně lokomoční aktivity. Koaplikace všech antipsychotik a látky MK-801 způsobuje signifikantní snížení počtu chybných vstupů oproti samotné aplikaci MK-801, avšak ne až na úroveň kontrolních zvířat, což je v souladu s podobnými výsledky uváděnými v literatuře. Statisticky významnějšího zlepšení oproti samotnému MK-801 dosáhla v parametru maximálního vyhýbání pouze koaplikace risperidonu s MK-801.

Ve studii Boast (1999) bylo zjištěno, že antagonisté 5-HT receptorů zlepšují chování potkanů sbírajících pelety v radiálním bludišti po aplikaci MK-801. Získaná data studie založené na kombinování pracovní paměti a zkušenosti z předchozích sezení znemožněním vstupu do určitých rámén ukázala, že koaplikace ritanserinu a MK-801 snižuje počet chyb v této úloze v porovnání s působením samotného MK-801 (Boast, 1999).

Antipsychotika inhibují MK-801-zprostředkované chování v závislosti na dávce, korespondující s antipsychotickým potenciálem u lidí (Adiné et al., 1999).

Nilsson et al., studovali a kvantifikovali změny chování u myší způsobené podáním MK-801 za použití automatického záznamového systému. Dále byl zkoumán efekt čtyř antipsychotických látek: haloperidolu, clozapinu, risperidonu

a M100907 a byl porovnán jejich účinek na blokádu NMDA receptorů indukované změny chování. Bylo zjištěno, že každá použitá látka měla poněkud odlišný účinek na MK-801-vyvolané změny chování. Haloperidol v dávkách redukujících hyperaktivitu na úroveň kontrol, nebyl schopný obnovit různorodost a pestrost chování. Naopak antipsychotika blokující 5-HT_{2A} receptory (risperidon, klozapin i M100907) zvyšovaly komplexitu chování zvířat společně s MK-801 v dávkách redukujících MK-801 indukovanou hyperaktivitu na úroveň kontrol (Nilsson et al., 2001).

Výsledky předkládané diplomové práce mimo jiné podporují i prediktivní validitu modelu schizofrenii podobného chování vyvolaného aplikací látky MK-801.

9. kapitola – Závěr

V této práci jsem se rozhodla čtenářům představit animální model schizofrenie, který se často využívá při modelování lidských psychiatrických onemocnění, konkrétně schizofrenie, a slouží k poodehalení příčin tohoto onemocnění a k vývoji a testování léčiv, které by „vyléčily“ nebo alespoň zmírnily projevy tohoto onemocnění a přispěly ke zkvalitnění a zpříjemnění života nemocných i jejich okolí.

- **V předkládané diplomové práci jsou popsány změny chování, resp. změny lokomoční aktivity a prostorové orientace za použití úlohy AAPA po systémovém podání nekompetitivního antagonisty NMDA receptorů látky MK-801. Práce dále ukazuje, jaký na tento model schizofrenii podobného chování měl vliv některých látek s klinickou antipsychotickou účinností, jmenovitě: risperidon, haloperidol a ritanserin.**
- **Výsledky diplomové práce ukazují, že aplikace MK-801 vedla ke kognitivnímu deficitu v úloze AAPA a zvýšení lokomoční aktivity.**
- **Samotná antipsychotika mírně zvyšují lokomoční aktivitu. Aplikace samotného risperidolu výrazně zvyšuje počet chyb v úloze AAPA. Schopnost zapamatovat si šokovou oblast je u laboratorních zvířat po aplikaci antipsychotik menší než u kontrolních zvířat.**
- **Antipsychotika v kombinaci s látkou MK-801 snižují počet chyb v úloze AAPA.**

Seznam použité literatury:

- Abi-Saab WM, D'Souza DC, Moghaddam B, Krystal JH. The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. *Pharmacopsychiatry* 1998; 31 Suppl 2: 104–109.
- Abi-Saab W, Seibyl JP, D'Souza DC, Karper LP, Gueorgueva R, Abi-Dargham A, Wong ML, Rajhans S, Erdos JP, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Ritanserin antagonism of m-chlorophenylpiperazine effects in neuroleptic-free schizophrenics patients: support for serotonin-2 receptor modulation of schizophrenia symptoms. *Psychopharmacology (Berl)* 2002;162:55–62.
- Adiné P, Widermark N, Axelsson R, Nyberg G, Olofsson U, Martensson E, Sandberg M. Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis 1999; 290: 1393-1408.
- Aghajanian GK, Marek GJ. Serotonin, via 5-HT_{2A} receptors, increase EPSC in layer V pyramidal cells of prefrontal cortex by an asynchronous mode of glutamate release. *Brain Res* 1999; 825:161-171.
- Ahlander M, Misane I, Schött P, Ögren S O. A behavioral analysis of the spatial learning deficit induced by the NMDA receptor antagonist MK-801 (dizocilpine) in the rat. *Neuropsychopharmacology* 1999; 21:414-426.
- Alyan, S., Jander, R. Short range homing in the house mouse, *Mus musculus*: Stages in the learning of direction. *Anim. Behav.* 1994; 48: 285-298.
- Angelucci F, Aloe L, Gruber SH, Fiore M, Mathe AA. Chronic antipsychotic treatment selectively alters nerve growth factor and neuropeptide Y immunoreactivity and the distribution of choline acetyl transferase in rat brain regions. *Int J Neuropsychopharmacol* 2000a;3:13–25.
- Angelucci F, Mathe AA, Aloe L. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase receptor TrkB in rat brain are significantly altered after haloperidol and risperidone administration. *J Neurosci Res* 2000b;60:783–794.
- Angelucci F, Mathe AA, Aloe L. Neurotrophic factors and CNS disorders: findings in rodent models of depression and schizophrenia. *Prog Brain Res* 2004;146:151–165.
- Aydar E, Palmer CP, Klyachko VA, Jackson MB. The sigma receptor as a ligand-regulated auxiliary potassium channel subunit. *Neuron* 2002;34(3):399–410.
- Bai O, Chlan-Fourney J, Bowen R, Keegan D, Li XM. Expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus after treatment with antipsychotic drugs. *J Neurosci Res* 2003;71:127–131.
- Barbier P, Colelli A, Maggio R, Bravi D, Corsini GU. Pergolide binds tightly to dopamine D2 short receptors and induces receptor sequestration. *J Neural Transm* 1997;104:867–874.
- Bartzokis G. Schizophrenia: breakdown in the well-regulated lifelong process of brain development and maturation. *Neuropsychopharmacology* 2002;27:672–683.
- Bilder RM, Wu H, Chakos MH, Bogerts B, Pollack S, Aronowitz J, Ashtari M, Degreef G, Kane JM, Lieberman JA. Cerebral morphometry and clozapine treatment in schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 1994;55 Suppl B:53–56.

Boast C, Bartolomeo A C, Morris H, Moyer J A. HT antagonists attenuate MK801-impaired radial arm maze performance in rats. *Neurobiology of learning and memory* 1999; 71: 259-271.

Bowers MB, Freedman DX. „Psychedelic“ experiences in acute psychosis. *Arch Gen Psychiatr* 1996; 53: 240-248.

Brake WG, Flores G, Francis D, Meaney MJ, Srivastava LK, Gratton A. Enhanced nucleus accumbens dopamine and plasma corticosterone stress responses in adult rats with neonatal excitotoxic lesions to the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 2000;96(4): 687-95.

Bressan RA, Erlandsson K, Jones HM, Mulligan R, Flanagan RJ, Ell PJ, Pilowsky LS: Is regionally selective D₂ /D₃ dopamine occupancy sufficient for atypical antipsychotic effect? an in vivo quantitative [¹²³I]epidepride SPET study of amisulpride-treated patients. *Am J Psychiatry* 2003;160:1413-1420.

Broderick PA, Piercy MF. Clozapine, haloperidol, and the D₄ antagonist PNU-101387G: in vivo effects on mesocortical, mesolimbic, and nigrostriatal dopamine and serotonin release. *J Neural Transm* 1998;105:749-767.

Bubeníková V. Schizofrenie jako porucha glutamátergní neurotransmise. *Psychiatrie* 2005; 9(2): 105-112.

Bubeníková V, Horáček J, Benešová O, Šťastný F. *Psychiatrie* 2003; (7)1:26-30.

Bubeníková V, Páleníček T. Účinek antagonistů serotoninových 5-HT_{2A/2C} receptorů na chování potkana v animálním modelu schizofrenii podobném chování. *Psychiatrie* 2005;9 (3):25-28.

Bubser M, Backstrom JR, Sanders-Bush E, Roth BL, Deutch AY. Distribution of serotonin 5-HT(2A) receptors in afferents of the rat striatum. *Synapse* 2001;39:297-304.

Bureš, J., Fenton, A.A., Kaminsky, Y. Place cells and place navigation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998; 94: 343-350.

Burris KD, Molski TF, Xu C, Ryan E, Tottori K, Kikuchi T, Yocca FD, Molinoff PB. Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2002a;302:381-389.

Burris KD, Molski TF, Xu C, Ryan E, Tottori K, Kikuchi T, Yocca FD, Molinoff PB. Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D₂ receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2002b;302:381-389.

Carlsson A. The dopamine theory revisited. In: Hirsch SR, Weinberger DR, editors. *Schizophrenia*. Oxford: Blackwell. Science1995; 379-400.

Carlsson ML. The selective 5-HT_{2A} receptor antagonist MDL 100,907 counteracts the psychomotor stimulation ensuing manipulations with monoaminergic, glutamatergic or muscarinic neurotransmission in the mouse—implications for psychosis. *J Neural Transm* 1995; 100:225-237.

Carlsson A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 14:60-237.

Carlsson M, Carlsson A. The NMDA antagonist MK-801 causes marked locomotor stimulation in monoamine-depleted mice. *J Neural Transm* 1989;75(3):221-226.

Carr DB, Sesack SR. Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: synaptic targets and relation to dopamine terminals. *J Comp Neurol* 1996;369(1):1-15.

Castner SA, Williams GV, Goldman-Rakic PS: Reversal of antipsychotic-induced working memory deficits by short-term dopamine D1 receptor stimulation. *Science* 2000;287:2020-2022.

Castren E, da Penha BM, Lindholm D, Thoenen H. Differential effects of MK-801 on brain-derived neurotrophic factor mRNA levels in different regions of the rat brain. *Exp Neurol* 1993;122:244-252.

Chakos MH, Lieberman JA, Alvir J, Bilder R, Ashtari M. Caudate nuclei volumes in schizophrenic patients treated with typical antipsychotics or clozapine. *Lancet* 1995;345:456-457.

Chakos MH, Lieberman JA, Bilder RM, Borenstein M, Lerner G, Bogerts B, Wu H, Kinon B, Ashtari M. Increase in caudate nuclei volumes of first-episode schizophrenic patients taking antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry* 1994;151:1430-1436.

Chambers RA, Moore J, McEvoy JP, Levin ED. Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1996;15(6):587-94.

Chatterton JE, Awobuluyi M, Premkumar LS, et al. Excitatory glycine receptors containing the NR3 family of NMDA receptor subunits. *Nature* 2002; 415: 793-798.

Chiodo LA, Bunney BS. Possible mechanisms by which repeated clozapine administration differentially affects the activity of two subpopulations of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci* 1985;5:2539-2544.

Chlan-Fourney J, Ashe P, Nylen K, Juorio AV, Li XM. Differential regulation of hippocampal BDNF mRNA by typical and atypical antipsychotic administration. *Brain Res* 2002a;954:11-20.

Chlan-Fourney J, Ashe P, Nylen K, Juorio AV, Li XM. Differential regulation of hippocampal BDNF mRNA by typical and atypical antipsychotic administration. *Brain Res* 2002b;954:11-20.

Chlan-Fourney J, Ashe P, Nylen K, Juorio AV, Li XM. Differential regulation of hippocampal BDNF mRNA by typical and atypical antipsychotic administration. *Brain Res* 2002c;954:11-20.

Choi DW, Rothman SM. The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Annu Rev Neurosci* 1990; 13: 171-182.

Cimadevilla ,J.M., Fenton, A.A., Bures, J. Functional inactivation of dorsal hippocampus impairs active place avoidance in rats. *Neurosci Lett*. 2000a; 285: 53-56.

Cimadevilla, J.M., Kaminsky, Y., Fenton, A. et al. Passive and active place avoidance as a tool of spatial memory research in rats. *Neurosci Methods* 2000b; 102: 155-164.

Cimadevilla, M., Wesierska, M. Fenton, A.A.. Inactivating one hippocampus impairs avoidance of a stable room-defined place during dissociation of arena cues from cues by rotation of the arena. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 3531-3536.

Clements JD, Lester RA, Tong G, Jahr CE, Westbrook GL. The time course of glutamate in the synaptic cleft. *Science* 1992; 258: 1498–1501.

Cohen JD, Servan-Schreiber D: Context, cortex, and dopamine: a connectionist approach to behavior and biology in schizophrenia. *Psychol Rev* 1992;99:45–77.

Cohen JD, Braver TS, Brown JW: Computational perspectives on dopamine function in prefrontal cortex. *Curr Opin Neurobiol* 2002;12:223–229.

Coyle JT, Tsai G. NMDA receptor function, neuroplasticity, and the pathophysiology of schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 2004; 59:491-515.

Csernansky JG, Csernansky CA, Kogelman L, Montgomery EM, Bardgett ME. Progressive neurodegeneration after intracerebroventricular kainic acid administration in rats: implications for schizophrenia? *Biol Psychiatry* 1998;44:1143-1150.

Dalgalarondo P, Gattaz WF: Basal ganglia abnormalities in tardive dyskinesia. Possible relationship with duration of neuroleptic treatment. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1994;244:272–277.

Das S, Sasaki YF, Rothe T, et al. Increased NMDA current and spine density in mice lacking the NMDA receptor subunit NR3A. *Nature* 1998; 393: 377–381.

Dawirs RR, Hildebrandt K, Teuchert-Noodt G: Adult treatment with haloperidol increases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. *J Neural Transm* 1998;105:317–327.

DeLisi LE: Schizophrenic brain morphology and outcome: correction. *Biol Psychiatry* 1992;31:1172.

Den Boer JA, van Megen HJ, Fleischhacker WW, Louwerens JW, Slaap BR, Westenberg HG, Burrows GD, Srivastava ON: Differential effects of the D1-DA

receptor antagonist SCH39166 on positive and negative symptoms of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 1995;121:317–322.

Diamond JS, Jahr CE. Transporters buffer synaptically released glutamate on a submillisecond time scale. *J Neurosci* 1997; 17: 4672–4687.

Donát P, Úvod do etofarmakologie, Tigis Praha 1999

Duman RS, Malberg J, Thome J: Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 1999;46:1181–1191.

Enarson MC, Hays H, Woodroffe MA. Clinical experience with oral ketamine. *J PainSymptom Manage* 1999; 17: 384–386.

Farde L, Nordstrom AL, Halldin C, Wiesel FA, Sedvall G: PET studies of dopamine receptors in relation to antipsychotic drug treatment. *Clin Neuropharmacol* 1992;15 Suppl 1 Pt A:468A–469A.

Farde L, Wiesel FA, Jansson P, Uppfeldt G, Wahlen A, Sedvall G: An open label trial of raclopride in acute schizophrenia. Confirmation of D₂-dopamine receptor occupancy by PET. *Psychopharmacology (Berl)* 1988;94:1–7.

Fix AS, Horn JW, Wightman KA, Johnson CA, Long GG, Storts RW, Farber N, Wozniak DF, Olney JW. Neuronal vacuolization and necrosis induced by the noncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist MK(+)-801 (dizocilpine maleate): a light and electron microscopic evaluation of the rat retrosplenial cortex. *Exp Neurol.* 1993;123:204-215.

Fumagalli F, Molteni R, Roceri M, Bedogni F, Santero R, Fossati C, Gennarelli M, Racagni G, Riva MA: Effect of antipsychotic drugs on brain-derived neurotrophic factor expression under reduced N-methyl-D-aspartate receptor activity. *J Neurosci Res* 2003a;72:622–628.

Fumagalli F, Molteni R, Roceri M, Bedogni F, Santero R, Fossati C, Gennarelli M, Racagni G, Riva MA: Effect of antipsychotic drugs on brain-derived neurotrophic factor expression under reduced N-methyl-D-aspartate receptor activity. *J Neurosci Res* 2003b;72:622–628.

Gainetdinov RR, Mohn AR, Caron MG. Genetic animal models: focus on schizophrenia. *Trends Neurosci* 2001;24(9):527–33.

Geyer MA, Cools AR. The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. *J Neurosci* 1995;15(11):7604–11.

Geyer MA, Markou A. Animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress*. 1995: 787-798.

Geyer MA, Russo PV, Segal DS, Kuczenski R. Effects of apomorphine and amphetamine on patterns of locomotor and investigatory behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1987;28(3):393–9.

Gill HS, DeVane CL, Risch SC: Extrapyramidal symptoms associated with cyclic antidepressant treatment: a review of the literature and consolidating hypotheses. *J Clin Psychopharmacol* 1997;17:377–389.

Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 1996;379(6566):606–12.

Goldman PS. Functional development of the prefrontal cortex in early life and problem of neuronal plasticity. *Exp Neurol* 1971; 32:366-387.

Hess EJ, Collins KA, Wilson MC. Mouse model of hyperkinesis implicates SNAP-25 in behavioral regulation. *J Neurosci* 1996; 16(9):3104–11.

Hess L., Psychedelické účinky ketaminu. *Remedia* 2006; aktuality - 2006/6

Heyser CJ, Wilson MC, Gold LH. Coloboma hyperactive mutant exhibits delayed neurobehavioral developmental milestones. *Brain Res Dev Brain Res* 1995;89(2):264–9.

Glantz LA, Lewis DA: Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 2000;57:65–73.

Govert A, Rivet JM, Lejeune F, Newman-Tancredi A, Adhumeau-Auclair A, Nicolas JP, Cistarelli L, Melon C, Millan MJ: Serotonin(2C) receptors tonically suppress the activity of mesocortical dopaminergic and adrenergic, but not serotonergic, pathways: a combined dialysis and electrophysiological analysis in the rat. *Synapse* 2000;36:205–221.

Goldman-Rakic P: The relevance of the dopamine- D1 receptor in the cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1999;21:S170–S180.

Goldman-Rakic PS, Muly EC, III, Williams GV: D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res Brain Res Rev* 2000;31:295–301.

Gottesman, I. I., & Shields, J. 1982 Schizophrenia: The epigenetic puzzle. Cambridge, UK: Cambridge University Press.Gray JA, Roth BL: Paradoxical trafficking and regulation of 5-HT(2A) receptors by agonists and antagonists. *Brain Res Bull* 2001a;56:441–451.

Gray JA, Sheffler DJ, Bhatnagar A, Woods JA, Hufeisen SJ, Benovic JL, Roth BL: Cell-type specific effects of endocytosis inhibitors on 5-hydroxytryptamine(2A) receptor desensitization and resensitization reveal an arrestin-, GRK2-, and GRK5-independent mode of regulation in human embryonic kidney 293 cells. *Mol Pharmacol* 2001b;60:1020–1030.

Grunder G, Carlsson A, Wong DF: Mechanism of new antipsychotic medications: occupancy is not just antagonism. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:974–977.

Harrison PJ: The neuropathological effects of antipsychotic drugs. *Schizophr Res* 1999;40:87–99.

Hoffman RE, McGlashan TH: Parallel distributed processing and the emergence of schizophrenic symptoms. *Schizophr Bull* 1993;19:119–140.

Horáček, J. Mechanizmus účinku atypických antipsychotik a neurobiologie schizofrenie. *Psychiatrie* 2004; 8(4): 293-303.

Höschl, Libiger, Švestka. *Praha Tigis Psychiatrie* 2004.

Hutson PH, Barton CL, Jay M, Blurton P, Burkamp F, Clarkson R, Bristow LJ. Activation of mesolimbic dopamine function by phencyclidine is enhanced by 5-HT_{2C/2B} receptor antagonists: neurochemical and behavioural studies. *Neuropharmacology* 2000; 39:2318-2328.

Ichikawa J, Ishii H, Bonaccorso S, Fowler WL, O'Laughlin IA, Meltzer HY: 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5- HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem* 2001;76:1521–1531.

Ishii T, Moriyoshi K, Sugihara H, et al. Molecular characterization of the family of the N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *J Biol Chem* 1993; 268: 2836–2843.

Jablensky A. The 100-year epidemiology of schizophrenia *Schizophr Res* 1997; 28: 111-125.

Jakab RL, Goldman-Rakic PS: 5-Hydroxytryptamine2A serotonin receptors in the primate cerebral cortex: possible site of action of hallucinogenic and antipsychotic drugs in pyramidal cell apical dendrites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:735–740.

Jay TM, Thierry AM, Wiklund L, Glowinski J. Excitatory amino acid pathway from the hippocampus to the prefrontal cortex. Contribution of AMPA receptors in hippocampo-prefrontal cortex transmission. *Eur J Neurosci* 1992;4(12):1285–95.

Jaskiw GE, Karoum F, Freed WJ, Phillips I, Kleinman JE, Weinberger DR. Effect of ibotenic acid lesions of the media prefrontal cortex on amphetamine-induced locomotion and regional brain catecholamine concentrations in the rat. *Brain Res* 90;534(1/2):263–72.

Jentsch JD, Roth RH. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1999; 20(3):201–25.

Jentsch JD, Taylor JR, Elsworth JD, Redmond DE, Roth RH. Altered frontal cortical dopaminergic transmission in monkeys after subchronic phencyclidine

exposure: involvement in frontostriatal cognitive deficits. *Neuroscience* 1999;90(3):823–32.

Jones SR, Gainetdinov RR, Jaber M, Giros B, Wightman RM, Caron MG. Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(7): 4029–34.

Jordan S, Koprivica V, Chen R, Tottori K, Kikuchi T, Altar CA: The antipsychotic aripiprazole is a potent, partial agonist at the human 5-HT1A receptor. *Eur J Pharmacol* 2002;441:137–140.

Jordan S, Koprivica V, Dunn R, Tottori K, Kikuchi T, Altar CA. In vivo effects of aripiprazole on cortical and striatal dopaminergic and serotonergic function. *Eur J Pharmacol* 2004;483:45–53.

Kalkman HO, Neumann V, Hoyer D, Tricklebank MD. The role of alpha2-adrenoceptor antagonism in the anti-cataleptic properties of the atypical neuroleptic agent, clozapine, in the rat. *Br J Pharmacol* 1998;124:1550–1556.

Kane JM, McGlashan TH. Treatment of schizophrenia. *Lancet* 1995;346:820–825.

Kapur S. Neuroimaging and drug development: an algorithm for decision making. *J Clin Pharmacol* 2001;Suppl:64S–71S.

Kapur S, Remington G. Serotonin–dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. *Am J Psychiatry* 1996;153:466–476.

Kapur S, Seeman P. NMDA receptor antagonists ketamine and PCP have direct effects on the dopamine D(2) and serotonin 5-HT(2) receptors-implications for models of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2002;7(8):837–44.

Knable MB, Weinberger DR. Dopamine, the prefrontal cortex and schizophrenia. *J Psychopharmacol* 1997;11:123–131.

Kolb B, Gibb R. Anatomical correlates of behavioral changes after neonatal prefrontal lesions in rats. *Prog Brain Res* 1990; 85:241-256.

Konradi C, Heckers S. Antipsychotic drugs and neuroplasticity: insights into the treatment and neurobiology of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2001;50:729–742.

Konradi C, Heckers S. Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther* 2003;97:153–179.

Kopeček, M. Klinické a teoretické aspekty podávání antipsychotik (neuroleptik) *Remedia* 2002; 12: 447-465.

Kramer MS, Last B, Getson A, Reines SA. The effects of a selective D4 dopamine receptor antagonist (L-745,870) in acutely psychotic inpatients with

schizophrenia. D4 Dopamine Antagonist Group. Arch Gen Psychiatry 1997;54:567–572.

Krystal JH, Karper LP, Sibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremmer JD, Heninger GR, Bowers MB a Charney DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans 1994; Arch. Gen Psychiatry 51: 199-214.

Kuroki T, Meltzer HY, Ichikawa J. Effects of antipsychotic drugs on extracellular dopamine levels in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. J Pharmacol Exp Ther 1999;288:774–781.

Labelle A, de Beaurepaire R, Boulay LJ, Naber D, Jones BD, Barnes TR. A pilot study of the safety and tolerance of SCH 39166 in patients with schizophrenia. J Psychiatry Neurosci 1998;23:93–94.

Lane RF, Blaha CD, Rivet JM. Selective inhibition of mesolimbic dopamine release following chronic administration of clozapine: involvement of alpha 1-noradrenergic receptors demonstrated by in vivo voltammetry. Brain Res 1988;460:398–401.

Lejeune F, Audinot V, Gobert A, Rivet JM, Spedding M, Millan MJ. Clozapine inhibits serotonergic transmission by an action at alpha 1-adrenoceptors not at 5-HT1A receptors. Eur J Pharmacol 1994;260:79–83.

Leucht S, Pitschel-Walz G, Engel RR, Kissling W. Amisulpride, an unusual „atypical“ antipsychotic: a meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Psychiatry 2002;159:180–190.

Leveque JC, Macias W, Rajadhyaksha A, Carlson RR, Barczak A, Kang S, Li XM, Coyle JT, Huganir RL, Heckers S, Konradi C. Intracellular modulation of NMDA receptor function by antipsychotic drugs. J Neurosci 2000;20:4011–4020.

Lillrank SM, Lipska BK, Kolachana BS, Weinberger DR. Attenuated extracellular dopamine levels after stress and amphetamine in the nucleus accumbens of rats with neonatal ventral hippocampal damage. J Neural Transm 1999;106(2):183–96.

Lipska BK, Halim ND, Segal PN, Weinberger DR. Effects of reversible inactivation of the neonatal ventral hippocampus on behavior in the adult rat. J Neurosci 2002;22(7):2835–42.

Lipska BK, Jaskiw GE, Weinberger DR. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic damage: a potential animal model of schizophrenia. Neuropsychopharmacology 1993;9(1):67–75.

Lipska BK, Swerdlow NR, Geyer MA, Jaskiw GE, Braff DL, Weinberger DR. Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in

prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacology* 1995;122:35–43.

Lipska BK, Weinberger DR. Subchronic treatment with haloperidol or clozapine in rats with neonatal excitotoxic hippocampal damage. *Neuropsychopharmacology* 1994; 10:199-205.

Lipska BK, Weinberger DR To model a psychiatric disorder in animals. Schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 2000; 23:223–239

Luján R, Shigemoto R, Lopez-Bendito G. Glutamate and GABA receptor signalling in the developing brain. *Neuroscience* 2005; 13:567-580.

Lynch MR. Schizophrenia and the D1 receptor: focus on negative symptoms. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1992;16:797–832.

Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000;20:9104–9110.

Marchese G, Casu MA, Bartholini F, Ruiu S, Saba P, Gessa GL, Pani L. Subchronic treatment with classical but not atypical antipsychotics produces morphological changes in rat nigro-striatal dopaminergic neurons directly related to „early onset“ vacuous chewing. *Eur J Neurosci* 2002; 15:1187-1196.

Martin P, Waters N, Carlsson A, Carlsson ML. The apparent antipsychotic action of the 5-HT2A receptor antagonist M100907 in a mouse model of schizophrenia is counteracted by ritanserin. *J Neural Transm* 1997;104:561-564.

Martin P, Waters N, Schmidt CJ, Carlsson A, Carlsson ML. Rodent data and general hypothesis: antipsychotic action exerted through 5-Ht2A receptor antagonism is dependent on increased serotonergic tone. *J Neural Transm* 1998;105:365–396.

McBain CJ, Mayer ML. N-methyl-D-aspartic acid receptor structure and function. *Physiol Rev* 1994; 74: 723–760.

Medina I, Filippova N, Charton G, et al. Calcium-dependent inactivation of heteromeric NMDA receptor-channels expressed in human embryonic kidney cells. *J Physiol* 1995; 482 (Pt 3): 567–573.

Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin2 pKi values. *J Pharmacol Exp Ther* 1989a;251:238–246.

Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC. The ratios of serotonin2 and dopamine2 affinities differentiate atypical and typical antipsychotic drugs. *Psychopharmacol Bull* 1989b;25:390–392.

Meltzer HY, Li Z, Kaneda Y, Ichikawa J. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27:1159–1172.

Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, Mori H, Mishina M, Nabeshima T. Hyperfunction of dopaminergic and serotonergic neuronal system in mice lacking the NMDA receptor epsilon1 subunit. *J Neurosci* 2001; 21:750-757.

Millan MJ, Dekeyne A, Gobert A. Serotonin (5-HT)2C receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex *in vivo*. *Neuropharmacology* 1998;37:953–955.

Mintz M, Youval G, Gigi A, Myslobodsky MS. Rats exposed to prenatal gamma-radiation at day 15 of gestation exhibit enhanced perseveration in T-maze. *Soc Neurosci Abstract* 1997; 23:1365.

Mion CC, Andreasen NC, Arndt S, Swayze VW, Cohen GA. MRI abnormalities in tardive dyskinesia. *Psychiatry Res* 1991;40:157–166.

Mirjana C, Baviera M, Invernizzi RW, Balducci C. The serotonin 5-HT2 receptors antagonist M100907 prevents impairment in attentional performance by NMDA receptor blockade in the rat prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 2004;29:1637-1647.

Mittelstaedt, H. Triple-loop model path control by head direction and place cells. *Cybern.* 2000; 83(3): 261-270.

Mittelstaedt, M.L., Mittelstaedt, H. Homing by path integration in a mammal. *Naturwissenschaften* 1980; 68: 566.

Moghaddam B, Adams BW (1998): Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 281:1349 –1352.

Mohn AR, Gainetdinov RR, Caron MG, Koller BH. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. *Cell* 1999;98(4):427–36.

Moller HJ. Amisulpride: limbic specificity and the mechanism of antipsychotic atypicality. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27:1101–1111.

Monyer H, Sprengel R, Schoepfer R, et al. Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science* 1992; 256: 1217–1221.

Moore NA. Behavioural pharmacology of the new generation of antipsychotic agents. *Br J Psychiatry* 1999; 174:5-11.

Morris, R.G.M. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn. Motiv.* 1981; 12: 239-261.

Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlings, J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 1982; 297: 681-683.

Moriyoshi K, Masu M, Ishii T, Shigemoto R, Mizuno N, Nakanishi S. Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature* 1991; 354: 31-37.

Muir K.W., Lees K.R., Clinical Experience With Excitatory Amino Acid Antagonist Drugs *Stroke* 1995;26:503-513.

Naghdi N, Harooni HE. The effect of intrahippocampal injections of ritanserin (5-HT_{2A/2C} antagonist) and granisetron (5-HT₃ antagonist) on learning as assessed in the spatial version of the water maze. 2005; 157(2):205-210.

Nguyen L, Rigo JM, Rocher V, Belachew S, Malgrange B, Rogister B, Leprince P, Moonen G. Neurotransmitters as early signals for central nervous system development. *Cell Tissue Res* 2001; 305:187-202

Nilsson M, Carlsson A, Carlsson ML. Glycine and D-serine decrease MK-801-induced hyperactivity in mice.

Nilsson M, Carlsson A, Markinhuhta KR, Sonesson C, Pettersson F, Gullme M, Carlsson ML. The dopaminergic stabiliser ACR16 counteracts the behavioural primitivization induced by the NMDA antagonist MK-801 in mice: implications for cognition. *Neuro-Psychopharmacology* 2004; 28: 677-685.

Nilsson M, Markinhuhta KR, Carlsson ML. Differential effects of classical neuroleptics and a newer generation antipsychotics on the MK-801 induced behavioural primitivization in mouse. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006; 30(3):521-530.

Nilsson M, Waters S, Waters N, Carlsson A, Carlsson ML. A behavioural pattern analysis of hypoglutamatergic mice – effects of four different antipsychotic agents. *Neural Transm* 2001; 108:1181-1196.

Noda A, Noda Y, Kamei H, Ichihara K, Mamiya T, Nagai T, Sugiura S, Furukawa H, Nabeshima T. Phencyclidine impairs latent learning in mice: interaction between glutamatergic systems and sigma(1) receptors. *Neuropsychopharmacology* 2001;24(4):451–60.

O'Donnell P, Grace AA. Phencyclidine interferes with the hippocampal gating of nucleus accumbens neuronal activity *in vivo*. *Neuroscience* 1998; 87:823-830.

O'Keefe, J. a Dostrovski, J., The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain res.*, 1971; 34: 171-175

O'Keefe, J. a Nadel, L. The hippocampus as a cognitive map, Clarendon, Oxford 1978.

Olton DS, Samuelson RJ. Remembrance of places passed – spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 1976; 2(2): 97-116.

O'Neill MF, Heron-Maxwell CL, Shaw G. 5-HT2 receptor antagonism reduces hyperactivity induced by amphetamine, cocaine and MK-801 but not D1 agonist C-APB. *Pharmacol Biochem Behav* 1999; 63:237-243.

Ossowska K, Pietraszek M, Wardas J, Nosák G, Zajaczkowski W, Wolfarth S, Pilc A. The role of glutamate receptors in antipsychotic drug action. *Amino Acid* 2000; 19:87-94.

Ottersen OP, Laake JH, Reichelt W, Haug FM, Torp R. Ischemic disruption of glutamate homeostasis in brain: quantitative immunocytochemical analyses. *J Chem Neuroanat* 1996; 12: 1–14.

Ottersen OP, Zhang N, Walberg F. Metabolic compartmentation of glutamate and glutamine: morphological evidence obtained by quantitative immunocytochemistry in rat cerebellum. *Neuroscience* 1992; 46: 519–534.

Overall KL, Natural animal models of human psychiatric conditions: assessment of mechanism and validity *Prog. Neuro-Psychopharmacol. And Biol. Psychiatry*. 2000;24:727-776

Ozaki T. Comparative effects of dopamine D(1) and D(2) receptor antagonists on nerve growth factor protein induction. *Eur J Pharmacol* 2000;402:39–44.

Ozaki T, Mui K, Yamagami S. Comparison of the effects of dopamine D1and D2 receptor antagonists on nerve growth factor mRNA expression. *Eur J Pharmacol* 1999;369:133–143.

Ozdemir V, Fourie J, Ozdener F. Aripiprazole (Otsuka Pharmaceutical Co). *Curr Opin Investig Drugs* 2002;3:113–120.

Páleníček T, Horáček J, Bubeníková V, Šťastný F. Effects of 5-HT1a receptor agonist 8-OH-DPAT and D2 receptor antagonist haloperidol on locomotion – animal model of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 2004;67:122.

Parikh V, Khan MM, Mahadik SP. Olanzapine counteracts reduction of brain-derived neurotrophic factor and TrkB receptors in rat hippocampus produced by haloperidol. *Neurosci Lett* 2004;356:135–139.

Pehek EA, McFarlane HG, Maguschak K, Price B, Pluto CP. M100,907, a selective 5-HT(2A) antagonist, attenuates dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Res* 2001;888:51–59.

Peroutka SJ. Molecular biology of serotonin (5-HT) receptors. *Synapse* 1994;18:241–260.

Petrovič M., Sedláček M., Horák M., Vyklický L. jr. Neurofarmakologická podstata působení memantinu v léčbě alzheimerovy demence. Klin Farm 2004; 18:81-89.

Potkin SG, Shipley J, Bera R, Carrion D, Fallon J, Alva G, Keator D. Clinical and PET effects of M100907, a selective 5-HT2A receptor antagonist. Schizophr Res 2001;49:242.

Potkin SG, Saha AR, Kujawa MJ, Carson WH, Ali M, Stock E, Stringfellow J, Ingenito G, Marder SROV. Aripiprazole, an antipsychotic with a novel mechanism of action, and risperidone vs placebo in patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. Arch Gen Psychiatry 2003;60:681–690.

Raber J, Mehta PP, Kreifeldt M, Parsons LH, Weiss F, Bloom FE, Wilson MC. Coloboma hyperactive mutant mice exhibit regional and transmitter-specific deficits in neurotransmission. J Neurochem 1997;68(1):176–86.

Ralph RJ, Paulus MP, Fumagalli F, Caron MG, Geyer MA. Prepulse inhibition deficits and perseverative motor patterns in dopamine transporter knock-out mice: differential effects of D1 and D2 receptor antagonists. J Neurosci 2001;21(1):305–13.

Remington G. Understanding antipsychotic „atypicality“: a clinical and pharmacological moving target. J Psychiatry Neurosci 2003;28:275–284.

Robertson GS, Fibiger HC. Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine. Neuroscience 1992;46:315–328.

Robertson GS, Fibiger HC. Effects of olanzapine on regional C-Fos expression in rat forebrain. Neuropsychopharmacology 1996;14:105–110.

Robertson GS, Matsumura H, Fibiger HC. Induction patterns of Fos-like immunoreactivity in the forebrain as predictors of atypical antipsychotic activity. J Pharmacol Exp Ther 1994;271:1058–1066Rodriguez, M., Mohr, P. Paměť a schizofrenie. Psychiatrie pro praxi 2004; 3:118-122.

Rogawski MA. Therapeutic potential of excitatory amino acid antagonists: channel blockers and 2,3-benzodiazepines. Trends Pharmacol Sci 1993; 14: 325–331.

Roth BL, Sheffler D, Potkin SG. Atypical antipsychotic drug actions: unitary or multiple mechanisms for „atypicality“? Clinical Neuroscience Research 2003.

Rung JP, Carlsson A, Ryden Markinhulta K, Carlsson ML. (+)-MK-801 induced social withdrawal in rats; a model for negative symptoms of schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005

Sakaue M, Somboonthum P, Nishihara B, Koyama Y, Hashimoto H, Baba A, Matsuda T. Postsynaptic 5-hydroxytryptamine (1A) receptor activation increases

in vivo dopamine release in rat prefrontal cortex. *Br J Pharmacol* 2000;129:1028–1034.

Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 1991;251:947–950.

Sedvall G, Pauli S, Karlsson P, Farde L, Nordstrom AL, Nyberg S, Halldin C. PET imaging of neuroreceptors in schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol* 1995;5 Suppl:25–30.

Seeman, P. Dopamine receptor sequences. Therapeutic levels of neuroleptics occupy D2 receptors, clozapine occupies D4. *Neuropsychopharmacology* 1992; 7: 261-284.

Seeman P. Antipsychotic drugs, dopamine receptors, and schizophrenia. *Clinical Neuroscience Research* 2001;1:53–60.

Seeman, P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry* 2002; 47: 27-38.

Selemon LD, Mrzljak J, Kleinman JE, Herman MM, Goldman-Rakic PS. Regional specificity in the neuropathologic substrates of schizophrenia: a morphometric analysis of Broca's area 44 and area 9. *Arch Gen Psychiatry* 2003;60:69–77.

Selemon LD, Rajkowska G, Goldman-Rakic PS. Abnormally high neuronal density in the schizophrenic cortex. A morphometric analysis of prefrontal area 9 and occipital area 17. *Arch Gen Psychiatry* 1995;52:805–818.

Shapiro DA, Renock S, Arrington E, Chiodo LA, Liu LX, Sibley DR, Roth BL, Mailman R. Aripiprazole, a novel atypical antipsychotic drug with a unique and robust pharmacology. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:1400–1411.

Schmidt CJ, Kehne JH, Carr AA. MDL 100,907: a selective 5-HT 2A receptor antagonist for the treatment of schizophrenia. *CNS Drug Rev* 1997; 3:49-67.

Spielewoy C, Roubert C, Hamon M, Nosten-Bertrand M, Betancur C, Giros B. Behavioural disturbances associated with hyperdopaminergia in dopamine-transporter knockout mice. *Behav Pharmacol* 2000;11(3/4):279–90.

Spitzer M. A neurocomputational approach to delusions. *Compr Psychiatry* 1995;36:83–105.

Steinpreiss RE. The behavioral and neurochemical effects of phencyclidine in humans and animals: some implications for modeling psychosis. *Behav Brain Res* 1996;74(1/2):45–55.

Stuchlik A, Space and spatial orientation. *Cesk Fysiol.* 2003; 52(1):22-33.

Sucher NJ, Akbarian S, Chi CL, et al. Developmental and regional expression pattern of a novel NMDA receptor-like subunit (NMDAR-L) in the rodent brain. *J Neurosci* 1995; 15: 6509–6520.

Swerdlow NR, Geyer MA. Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull* 1998;24(2):285–301.

Swerdlow NR, Lipska BK, Weinberger DR, Braff DL, Jaskiw GE, Geyer MA. Increased sensitivity to the sensorimotor gatingdisruptive effects of apomorphine after lesions of medial prefrontal cortex or ventral hippocampus in rats. *Psychopharmacology* 1995; 122:27–34.

Švestka, J. Nová (atypická) antipsychotika 2. generace 2000; www.medicina.cz

Talamini LM, Koch T, Ter Horst GJ, Korf J. Methylazoxymethanol acetate-induced abnormalities in the entorhinal cortex of the rat; parallels with morphological findings in schizophrenia. *Brain Res* 1998; 789:293-306.

Taube, J.S., Head direction cells and the neurophysiological basis for a sense od direction. *Prog. Neurobiol.* 1998; 55: 225-256.

Tzschenke TM. Pharmacology and behavioral pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog Neurobiol* 2001;63:241–320.

Vaidya VA, Marek GJ, Aghajanian GK, Duman RS. 5-HT2A receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J Neurosci* 1997;17:2785–2795.

Vaidya VA, Terwilliger RM, Duman RS. Role of 5-HT2A receptors in the stress-induced down-regulation of brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 1999;262:1–4.

Van Tol HH, Bunzow JR, Guan HC, Sunahara RK, Seeman P, Niznik HB, Civelli O. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 1991;350:610–614.

Verma A, Moghaddam B. NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. *J Neurosci* 1996; 16:373-379.

Vile JM, Strange PG. Atypical antipsychotics-serotonergic mechanisms but don't forget dopamine. *J Psychopharmacol* 1997;11:24–25. Vollenweider FX. Advances and pathophysiological models of hallucinogenic drug actions in humans: a preamble to schizophrenia research. *Pharmacopsychiatry* 1998;31 Suppl 2:92–103.

Vyklicky L, Jr., Krusek J, Edwards C. Differences in the pore sizes of the N-methyl--D-aspartate and kainate cation channels. *Neurosci Lett* 1988; 89: 313–318.

Waddington JL. Therapeutic potential of selective D-1 dopamine receptor agonists and antagonists in psychiatry and neurology. *Gen Pharmacol* 1988;19:55–60.

Weinberger DR. The biological basis of schizophrenia: new directions. *J Clin Psychiatry* 1997;58 Suppl 10:22–27.

Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Lipska BK, Berman KF, Goldberg TE. Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 2001;50:825–844.

Wiesel FA, Nordstrom AL, Farde L, Eriksson B. An open clinical and biochemical study of ritanserin in acute patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 1994;114:31–38.

Wong AH, Van Tol HH. The dopamine D4 receptors and mechanisms of antipsychotic atypicality. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2003;27:1091–1099.

Wong, A.H., Van Tol H.H. Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (2003) 269–306.

Xu H, Qing H, Lu W, Keegan D, Richardson JS, Chlan-Fourney J, Li XM. Quetiapine attenuates the immobilization stress-induced decrease of brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus. *Neurosci Lett* 2002;321:65–68.

Yamazaki M, Igarashi H, Hamamoto M, Miyazaki T, Nonaka I. A case of mitochondrial encephalomyopathy with schizophrenic psychosis, dementia and neuroleptic malignant syndrome. *Rinsho Shinkeigaku* 1991;31(11):1219–23.

Yan QS. Activation of 5-HT2A/2C receptors within the nucleus accumbens increases local dopaminergic transmission. *Brain Res Bull* 2000;51:75–81.