VÝZKUMNÝ ZÁMĚR 3 - FARMAKOLOGICKÉ A NEFARMAKOLOGICKÉ METODY LÉČEBNÉHO OVLIVNĚNÍ GLUTAMÁTERGNĚ MEDIOVANÝCH NEUROPLASTICKÝCH ZMĚN

Výzkumný cíl 1 - Glutamátergní farmaka v klinické praxi

Aktivita 1 – Neurobiologie antidepresivního účinku ketaminu ve světle modulace kynureninové kaskády

Cílem aktivity je v plánované placebem kontrolované studii studovat souvislost antidepresivního účinku jednorázové infuze subanestetické dávky ketaminu s hladinou metabolitů kynureninové kaskády.

1) stanovit vliv jednorázové infuze ketaminu na metabolity kynureninové kaskády

2) korelovat s psychopatologií hodnocenou formou klinického škálování pomocí BPRS (Brief psychiatric Rating Scale), MADRS (Montgomery-Asberg Depression Rating Scale), BDI (Beck depression Inventory) a CGI (Clinical Global Impression) v čase 0; 1; 3 a 7 dní od aplikace ketaminu.

3) prozkoumat závislost těchto pochodů na pohlaví a hormonálním statusu pacientů. Vztah mezi terapeutickým efektem ketaminu a pohlavím je doposud málo prozkoumaný, leč podíl pohlavních hormonů na patofyziologii deprese a efektu antidepresiv je nepochybný. Afektivní poruchy jsou obecně častější u pre- nebo perimenopauzálních žen a také studie prokazují facilitaci hipokampální NMDA signalizace vlivem estrogenu (Woolley, McEwen, 1994, Smith et al., 2009). V animálních experimentech se zjistilo, že myší samice jsou citlivější na akutní efekty ketaminu, avšak délka jeho antidepresivního účinku byla větší u samců (Franceschelli et al., 2015). Podíl pohlavních hormonů podporuje další zjištění z animálních studií, kdy vyšší citlivost potkaních samic na ketamin zcela ustoupila po ovariektomii a opět se zvýšila po hormonální suplementaci (Carrier, Kabbaj, 2013).

4) Do studie bude zařazeno 30 pacientů se středně těžkou až těžkou depresivní poruchou bez psychotických příznaků, kteří podstoupí jednorázovou aplikaci subanestetické dávky ketaminu. Pacienti budou randomizováni a s odstupem 14 dní bude zkříženě podána placebo infuze

Většina neuroplastických změn probíhá v glutamátergních neuronálních okruzích a klinická evidence glutamatergní dysregulace jako patofyziologického mechanismu deprese v posledních letech promptně narůstá – prokázala se zejména pozitivní korelace mezi plazmatickou hladinou glutamátu a závažností depresivní symptomatologie (Kendel et al., 2005, Mitani et al., 2006, Sanacora et al., 2012), ale i pokles sérové hladiny glutamátu po úspěšné terapii deprese (Kucukibrahimoglu et al., 2009). Spektroskopické studie dále potvrzují zvýšení extracelulárních hladin glutamátu v okcipitální, frontální a cingulární kůře depresivních pacientů (Sanacora et al., 2004, Hasler et al., 2007, Grimm et al., 2012). Dalším diskutovaným neurobiologickým mechanismem deprese je prozánětlivá imunitní odpověď.

Průřezové a několik longitudinálních studií prokázaly známky aktivace zánětlivé odpovědi v periferní krvi i v mozkové tkáni pacientů s depresí. Jako příklad lze uvést zjištěné vyšší hladiny TNF-α (Hestad et al., 2013), IL-6 a IL 1-b (Dahl et al., 2014) v periferní krvi depresivních pacientů a jejich redukci vlivem úspěšné terapie. Valkanova s kol. ve své metaanalýze prokázali souvislost mezi zvýšenou hodnotou CRP a depresivní symptomatologií a potvrdili i kauzální vliv výše zmíněného IL-6 (Valkanova et al., 2013). Pozoruhodné jsou také výsledky výzkumného týmu Zalli et al. z Británie a Nizozemska, kdy při pětiletém longitudinálním sledování souboru 656 pacientů prokázali vliv elevace zánětlivých cytokinů na perzistenci depresivní symptomatologie (Zalli et al., 2016). Zajímavou je souvislost mezi zánětlivou aktivací a suicidalitou. U

suicidantů byla zjištěna zvýšená exprese cytokinů v orbitofrontální kůře (Tonelli et al., 2008) nebo vyšší hladiny IL-6 v mozkomíšním moku (Lindqvist et al., 2009). O'Donovan et al. prokázali vyšší zánětlivý index (sumární skóre z parametrů jako jsou CRP, IL-6, IL-10 aTNF- α) u pacientů s depresí a suicidálními ideacemi ve srovnání s depresivními pacienty bez nich (O'Donovan et al., 2013). S těmito experimentálními výsledky těsně souvisí pozorvání sekundární depresivní symptomatologie a suicidálních ideací u pacientů léčených interferony (například Dieperink et al., 2004, Wang et al., 2016).

Ukazuje se navíc, že tyto 2 hypotézy jsou vzájemně propojeny. Prozánětlivé cytokiny interagují s glutamátem na několika úrovních, zejména snížením exprese glutamátových transportérů, uvolněním glutamátu z astrocytů s jeho následným působením na extrasynaptické NMDA receptory, down-regulací BDNF a zvýšením excitotoxicity, a nebo také inhibicí aktivity glutamin syntetázy s výsledným hromaděním koncentrace glutamátu (Ida et al., 2008, Miller et al., 2009). Ještě zajímavější je však zjištění, že prozánětlivé cytokiny dokážou spustit alternativní cestu degradace tryptofanu, kdy indukcí enzymu indolamin 2,3-dioxygenázy se místo produkce serotoninu spouští kynureninová kaskáda (Dantzer et al., 2008). Dvěma konečnými produkty této kaskády jsou chinolinová a kynureninová kyseliny, obě s početnými účinky na neurotransmisi (Schwarcz et al., 2012). Kyselina kynureninová vzniká z kynureninu (působením enzymu kynurenin aminotransferázy), je produkována astrocyty a má vlastnosti NMDA antagonisty, proto se diskutuje její psychotomimetický účinek a úloha v patogenezi schizofrenie (Linderholm et al., 2012).

Vlivem kynurenin 3-hydroxylázy se však kynurenin přeměňuje na kyselinu chinolinovou, která je naopak NMDA agonistou a je produkována buňkami mikroglie. Chinolinát je významným excitotoxinem CNS, selektivně antagonizujícím NMDA receptory v hipokampu, striatu a neokortexu, kde vede k alteraci neuronálních funkcí či dokonce apoptóze (Guillemin, 2012). Preklinické (Kubešová et al. 2015) i klinické nálezy podporující aktivace kynureninové kaskády u psychiatrických poruch se množí a v případě depresivních i suicidálních pacientů a zdá se, že rozhodující0 je právě posun směrem tvorby chinolinátu. Prokázána je například jeho vyšší koncentrace v oblasti předního cingulárního kortexu v mozcích depresivních pacientů zemřelých při sebevraždě ve srovnání s kontrolní skupinou mozků lidí bez psychického onemocnění (Steiner et al., 2011).

Autoři Erhardt et al. prokázali signifikantně zvýšenou hladinu chinolinové kyseliny v mozkomíšním moku pacientů s anamnézou TS pokusu ve srovnání se zdravými kontrolami, ale navíc zjistili korelaci s hladinou IL-6, depresivní symptomatologií podle škály MADRS a také konstatovali signifikantní pokles chinolinové kyseliny v mozkomíšním moku 6 měsíců po sebevražedném pokusu, spolu s redukcí depresivní symptomatologie (Erhardt et al., 2013). Další tým autorů replikovat nález vyšší hladiny chinolinátů v mozkomíšním moku suicidantů ve srovnání se zdravými kontrolami a navíc poukázal na souvislost mezi množstvím chinolinátu a závažností depresivních symptomů (Bay-Richter et al., 2015).

Zvýšení hladiny chinolinátu v séru a mozkomíšním moku depresivních nemocných bylo pravidelně doprovázeno snížením koncentrací kynureninové kyseliny, přičemž klinicky byla zjištěna negativní korelace mezi hladinou kynureninové kyseliny a depresivní symptomatologií dle MADRS (Bay-Richter a kol., 2015). Tento reciproční vztah byl experimentálně potvrzen – například pod vlivem chinolinové kyseliny na buněčné kultury astrocytů dochází k jejich apoptóze (Guillemin et al., 2005), a tudíž nemožnosti tvorby kynureninové kyseliny těmito buňkami. Snížená hladina kynureninové kyseliny zřejmě též nachází své uplatnění v patogenezi deprese. Teoretizuje se o její účasti na dopaminergní neurotransmisi (Scwarcz et al., 2012) v

kontextu souvislosti deprese s narušením dopaminové neuronální odpovědi na odměnu (Tye et al., 2013, Bay-Richter et al., 2015), avšak přesné mechanismy zatím nejsou známy.

Jedním z převratných bodů ve výzkumu deprese bylo zjištění promptního antidepresivního efektu molekuly ketaminu, NMDA antagonisty, schváleného FDA jako anestetikum od 70. let 20. století. U lidí tento efekt poprvé popsali autoři Berman et al. v roce 2000 a spustili tak kaskádu studií, věnovaných rychlému antidepresivnímu efektu této molekuly. V průběhu následujících 17 let byl mnohokrát replikován signifikantní antidepresivní i antisuicidální efekt ketaminu (Reinstatler et al., 2015, Xu et al., 2016) a dokonce se zdá, že jeho antisuicidální účinek nemusí být závislý na antidepresivním působení (Price et al., 2009). Nové poznatky o molekulárním působení ketaminu jsou dalším důvodem pro integraci glutamatergní a zánětlivé teorie deprese. Podání ketaminu totiž vyvolává hned několik molekulárních pochodů, vedoucích k neuroplastickým změnám: jednak presynaptická desinhibice glutamátergních neuronů, aktivace AMPA receptorů (Zarate a Manji, 2008; Koike et al., 2011) a blokáda extrasynaptických NMDA receptorů (Tizabi et al., 2012) a postsynaptická aktivace signálních drah zahrnujících BDNF (Garcia et al., 2008) a mTOR (Li et al., 2010), vedoucích k neuroplastickým pochodům.

V neposlední řadě se však hovoří o souvislosti neuroplasticity a imunomodulačního účinku ketaminu. Tak, u krys je antidepresivní efekt ketaminu spojen s inhibicí mikroglie a s down-regulací prozánětlivých cytokinů v hipokampu (Wang et al, 2015, Chen et al., 2017). Byla též zjištěna korelace antidepresivního efektu ketaminu s poklesem sérových hladin IL-6 a dokonce se ukázalo, že výchozí hladiny IL-6 jsou prediktivní pro antidepresivní odpověď na ketamin (Yang et al., 2015). Zajímavé zjištění přináší například studie autorů Walker et al., zaměřená na molekulární mapování mechanizmu antidepresivního účinku ketaminu.

Vycházeli ze skutečnosti, že lipopolysacharid navozuje u myší depresivní syndrom prostřednictvím aktivace kynureninové kaskády s tvorbou výše zmíněného NMDA agonisty chinolinátu. Ve svém experimentu podali myším nízkou dávku ketaminu krátce před aplikací depresogenního lipopolysacharidu a zjistili, že po takové premedikaci již lipopolysacharid nespustil depresivní chování u zvířat, ačkoliv v mozkové tkáni byla patrná indukce cytokinů a klinicky byly patrné jiné indukované známky zánětu (kromě deprese). Navíc, při podání AMPAR antagonisty NBQX se efekt lipopolysacharidu na depresivní chování opět obnovil i přes podaný ketamin. Studie tudíž inklinuje k nezávislému působení ketaminu v oblasti NMDA receptoru v kompetici s kyselinou chinolinovou, v tomto případě dokonce bez jeho vlivu na iniciaci kynureninové kaskády.

Na základě výše zmíněných poznatků lze usoudit, že metabolity kynureninové kaskády jsou ústředními generátory depresivní i suicidální symptomatologie, jež propojují zánětlivou a glutamátovou teorii, a ketamin může být klíčem k podrobnějšímu poznání neurobiologických mechanizmů deprese a možností její efektivnějšího ovlivnění.

Zapojené subjekty:

- NUDZ – prof. MUDr. Jiří Horáček, PhD., MUDr. Veronika Andrashko