
Buněčné membrány jako cíl působení antidepresiv

Anders M., Fišar Z.

Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN, Praha,
přednosta prof. MUDr. J. Raboch, DrSc.

SOUHRN

Mechanismus působení antidepresiv nebyl dosud zcela plně objasněn. Studium vlivu antidepresiv na interakce lipid-protein je nezbytnou součástí výzkumu mimo jiné proto, že plazmatická membrána je prvním místem kontaktu léčiva s cílovou buňkou. Z pohledu membránových hypotéz vzniku depresivní poruchy může být klíčovým mechanismem působení antidepresiv právě buněčná membrána a změny v jejím složení, které se následně promítají do funkce membránově vázaných receptorů, enzymů, přenašečů a iontových kanálů. Jako vhodné modely studia těchto interakcí se používají izolované synapse, krevní buňky, buněčné kultury, izolované buněčné membrány a umělé fosfolipidové membrány.

Klíčová slova: membrány, neurotransmitéry, transportní proteiny, antidepresiva, synaptosomy.

SUMMARY

Anders M., Fišar Z.: The Mechanism of Antidepressants Action on Cellular Membranes

The mechanisms of antidepressants action that are linked to their therapeutic effects are not sufficiently explained. According to the membrane hypothesis of affective disorders, disturbances in lipid-protein interactions can be predisposing factor in depression and changes in lipid-protein interactions induced by antidepressive drugs can be crucial step in molecular mechanism of their action. The hypothesis is based on well known fact that lipid-protein interactions affect functionality of most membrane integral proteins, including enzymes, receptors, transporters and ion channels ensuring signal transduction. An isolated synapses, blood elements, cell cultures, isolated plasma membranes and artificial phospholipid membranes can be used as proper models.

Key words: membranes, neurotransmitters, transporters, antidepressants, synaptosomes.

Čes. a slov. Psychiat., 103, 2007, No. 8, pp. 413–419.

ÚVOD

Ačkoliv se dnes používají stovky psychotropních látek s více či méně specifickými účinky na symptomy jednotlivých duševních poruch, nejedná se dosud pravděpodobně o léčbu kauzální. Nicméně právě poznávání mechanismů účinků těchto léčiv vedlo a vede k vytváření hypotéz o biochemické podstatě duševních poruch, což zpětně ovlivňuje vývoj nových léčiv. K neznámějším primárním biochemickým účinkům antidepresiv lze řadit inhibici zpětného vychytávání (reuptake) neurotransmitérů, v různém jejich zastoupení, případně specifickém vzájemném poměru a současnou agonizaci nebo antagonizaci různých receptorů. Dalším typickým mechanismem působení je inhibice funkce enzymů, které řídí metabolismus monoaminových neurotransmitérů. K méně známým oblastem působení antidepresiv patří ovlivnění složení membrány, které má další konsekvence,

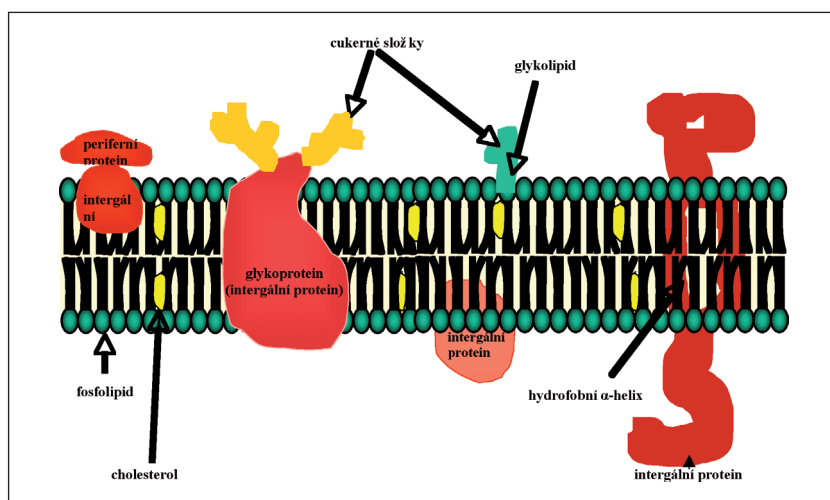
včetně ovlivnění funkce neurotransmitérových přenašečů a aktivity membránově vázaných enzymů.

Pro názornější představu o možných mechanismech vlivu antidepresiv na funkci a/nebo složení membránových komponent je uveden model tekuté mozaiky (obr. 1) a přehled možných interakcí membránových proteinů s lipidovou dvojvrstvou (obr. 2).

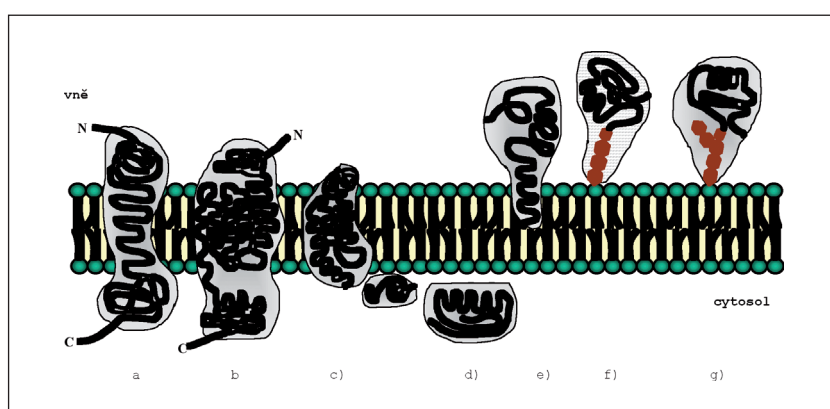
Interakce antidepresiv s membránovými složkami

Ovlivnění transportních proteinů pro neurotransmitéry

Předpokladem účinnosti inhibitorů zpětného vychytávání neurotransmitérů je blokáda funkce transportních proteinů, která se děje vysokoafinní vazbou antidepresiv k místům lokalizovaným v různých oblastech příslušného proteinu zajišťujícího zpětný transport transmitérů [43]. Velká



Obr. 1. Model složení membrány tzv. tekutá mozaika.



Obr. 2. Interakce membránových proteinů s lipidovou dvojrivrstvou. Upraveno podle [10]. Samostatný transmembránový segment – šroubovice; b) transmembránový segment složený z více – šroubovic; c) vazba k integrálnímu proteinu; d) elektrostatická vazba proteinu k lipidové dvojrivrstvě; e) připojení krátkou hydrofobní sekvencí aminokyselin; f) protein vázaný kovalentní vazbou k lipidové dvojrivrstvě; g) vazba pomocí glykosylfosfatidylinositolové kotvy.

pozornost byla v oblasti zpětného transportu neurotransmiterů věnována zejména serotoninu (5-hydroxytryptamin, 5-HT), noradrenalinu a dopaminu. Aktivní transport byl studován *in vitro* na synaptosomech, buněčných kulturách, krevních elementech (serotonin na krevních destičkách, noradrenalin na lymfocytech) i rekonstituovaných systémech vzniklých zabudováním izolovaného transportního proteinu do lipidové dvojrivrstvy.

Membránový přenašeč pro serotonin (SERT) má určující úlohu v regulaci reuptake 5-HT a tedy i v udržování serotonergních funkcí v mozku [24]. Antidepresiva se liší specificitou a účinností inhibice SERT, přičemž inhibice může být kompetitivní, smíšená i nekompetitivní [14, 29]. Byla nalezena dvě nezávislá vazebná místa na SERT pro inhibitory uptake 5-HT [38, 39]. Tyto inhibitory se vážou k vysoafinnímu místu, čímž blokují přenos 5-HT. Druhé vazebné místo je nízkoafinní alosterické místo, které ovlivňuje disociaci inhibitoru z vysokoafinního místa. Za příklad recentního nálezu v oblasti terapeutické aplikace lze považovat

např. vazbu escitalopramu na primární vazebné místo, která je posilována současným ovlivněním alosterického vazebného místa identickou látkou, což z hlediska efektu posiluje blokádu zpětného vychytávání serotoninu a podílí se na klinickém efektu léčby [42].

Předpokládá se, že aktivita SERT v krevních destičkách může být použita jako marker účinků selektivních inhibitorů reuptake serotoninu (SSRI) na serotonergní systém v mozku [2, 3]. Informace o změnách serotonergních parametrů v destičkách depresivních osob před a po léčbě antidepresivy jsou však nekonzistentní [28, 31, 32, 34, 36]. SERT v destičkách depresivních osob je studován jednak měřením parametrů vazby imipraminu nebo paroxetinu, jednak měřením kinetických parametrů přenosu 5-HT přes membránu. Maximální rychlost přenosu 5-HT do destiček po léčbě antidepresivy byla pozorována jak snížená [2, 35, 45], tak i nezměněná [19, 26, 33]. Zdánlivá Michaelisova konstanta pro uptake 5-HT do destiček je po podávání antidepresiv zvýšena [19, 25,

26, 33; 35, 45, 47]. Účinnost vychytávání mimobuněčného 5-HT je tedy po podávání řady antidepresiv snížena.

Řada autorů provedla izolaci a charakterizaci různých transportních systémů [1]. SERT byl solubilizován a rekonstituován do proteoliposomů ve formě schopné transportu a s vazebnými charakteristikami podobnými jako v nativních membránách. Byly izolovány, klonovány a sekvenovány cDNA pro transportní proteiny pro 5-HT v lidském mozku a v destičkách a byla potvrzena jejich identita společně s faktem, že koncentrace 5-HT v destičkách odráží extracelulární hladiny 5-HT v CNS [7]. Současně bylo potvrzeno, že antidepresiva regulují zpětný transport 5-HT i na úrovni genové exprese, ale zkoumán je však i samotný genetický polymorfismus transportéru a jeho vliv na aktivitu přenašeče [27].

Ovlivnění membránově vázaných enzymů

Terapeutické účinky, jak to dokládají přímé účinky na membránové enzymové a transportní systémy, se mohou uskutečňovat i jinými mechanismy, než byly uvedeny výše. Příkladem může být blokáda zpětného vychytávání, kterou je možné navodit i inhibicí presynapticky lokalizované Na^+K^+ -ATPasy, nebo docílení částečné regulace počtu β -adrenoceptorů (považováno za adaptivní jev vyvolaný trvale zvýšenou intrasynaptickou koncentrací noradrenalinu) přímými postsynaptickými účinky antidepresiv na proteinkinázu C nebo fosfolipázu typu A_2 (PLA_2). Jinou možností je ovlivnění neuronální funkce stimulací či inhibicí Na^+K^+ -ATPasy v postsynaptických membránách, o které se předpokládá, že má funkční úlohu v monoaminergní neurotransmisi. V presynaptické části tento enzym ovlivňuje hyperpolarizaci nebo depolarizaci neuronů, ale také může zasahovat do procesu uvolňování nebo zpětného vychytávání neurotransmitérů. Uvažuje se i o tom, že indukce regenerace axonů noradrenergických neuronů locus coeruleus, ke které dochází po podávání některých antidepresiv, je pravděpodobně uskutečněna přes aktivaci PLA_2 .

Zde je nezbytné zmínit, že v aktivaci různých enzymových a receptorových systémů hrají významnou roli kyselá fosfolipidy a obohacováním membrány fosfatidylserinem lze tyto pochody modulovat. Lze například zvýšit aktivitu Na^+K^+ -ATPasy v intaktních synaptosomech [22] a v plazmatických membránách dokonce i acetylcholinesterázy. Závislost aktivity na obsahu kyselých fosfolipidů byla nalezena i pro proteinkinázu C [41], jež je významně ovlivněna fosfatidylserinem. Rovněž metylace fosfolipidů v synaptických membránách nebo podávání fosfolipidů *in vivo* může ovlivnit adaptaci receptorů na chronické podávání antidepresiv [40].

Lipidové prostředí membrány ovlivňuje i vazbu antidepresiv k membránám a i zde hrají význam-

nou roli kyselá fosfolipidy, zejména fosfatidylserin. Byla zjištěna zvýšená vazba TCA k fosfatidylserinovým membránám naznačující možnost účinku TCA tímto způsobem [16, 18]. Mechanismus ovlivnění není znám, ale je možné, že vyvolává změnu propustnosti membrán pro molekuly léčiva [46], nebo dochází k uplatnění interakce farmakon-fosfatidylserin-protein.

Většina užívaných antidepresiv jsou amfifilní molekuly, které nesou za fyziologických podmínek kladný náboj. V lipidové dvojvrstvě dochází k akumulaci nabitých i nenabitých forem, čímž se zvyšuje dostupnost antidepresiv pro jejich případná intramembránová vazebná místa a možnost zásahu těchto látek do interakcí ligand-receptor, lipid-protein; také se může měnit struktura a vlastnosti membrány. Koncentrace antidepresiv v membránách jsou mnohem vyšší než v plazmě [17] a navíc dochází k jejich akumulaci v mozkové tkáni [20], což může být nezbytné pro jejich účinky na funkci řady membránově vázaných systémů. Dalším potvrzením hypotézy o úloze lipidové dvojvrstvy v mechanismu účinku antidepresiv je i ovlivnění transmembránového transportu 5-HT a noradrenalinu změnami fosfolipidového složení plazmatických membrán [6], potvrzení vysokafiní vazby TCA k lipidovým dvojvrstvám [18] a nalezení změn membránových fosfolipidů a cholesterolu v buněčných kulturách i v živočišných tkáních po dlouhodobém působení antidepresiv [15].

Ovlivnění transdukčních systémů

Většina látek považovaných za tzv. první posly (hormony, neurotransmitéry) realizuje změnu funkčního stavu efektorových molekul (adenylát-cyklas, fosfolipas C a A_2) nebo iontových kanálů prostřednictvím G proteinů. S G proteiny je spojena i většina typů receptorů pro serotonin, noradrenalin a dopamin [13]. Změny v expresi a ve funkci různých G proteinů byly zjištěny nebo se předpokládají i u psychických onemocnění a mohou je způsobovat i některá psychofarmaka, včetně antidepresiv a lithia [37]. Je známo, že se přenosové systémy navzájem ovlivňují a stejné efektorové molekuly mohou být regulovány podjednotkami G proteinů aktivovanými různými receptory [23].

Procesy související s přenosem nervového signálu na synapsích jsou velmi rozmanité a vzájemně propojené. Je obtížné určit, která součást mechanismu přenosu je určující pro terapeutické účinky antidepresiv. Pozornost byla nejprve zaměřena na syntézu, metabolismus a membránový přenos monoaminových neurotransmitérů, později byly studovány změny hustoty a citlivosti neurotransmitérových receptorů. Protože se nepodařilo najít receptorové změny společné všem antidepresivně nebo antimanicky účinkujícím lékům a dlouhodobě existuje nedostatek významnějších pokroků ve vývoji nových, účinnějších léků pro poruchy

nálady, orientoval se výzkum na úlohu nitrobuň-
ných signálních kaskád. Předpokládá se, že dlou-
hodobé podávání antidepresiv je spojeno se zvýše-
nou syntézou neurotrofních faktorů, které
zamezují nebo eliminují neurodegenerativní pro-
cesy způsobené chronickým stresem nebo depresí.
Studovány jsou především procesy vedoucí ke zvý-
šené fosforylaci (a tedy aktivaci) transkripčního
faktoru aktivovaného v odezvě na zvýšení hladin
cAMP (cAMP response element-binding protein,
CREB) a následné genové expresi mozkového-
odvozeného neurotrofního faktoru (brain-derived
neurotrophic factor, BDNF) a jeho receptorů ([1,
12, 43]. K upregulaci CREB a BDNF dochází
v odezvě na různá antidepresiva, včetně noradre-
nergických, SSRI, a dokonce i po elektrokonvulzivní
terapii [8]. Rovněž stabilizátory nálady, jako je lit-
hium a valproát, v terapeutických koncentracích
aktivují neurotrofní signální kaskádu i jiné signál-
ní cesty a transkripční faktory. V současné době je
diskutována především aktivace cytoprotektivní-
ho proteinu Bcl-2 a inhibice [glykogensynthé-
ázy]kinázy-3 (GSK-3) lithiem a inhibice GSK-3
a histondeacylázy valproátem [48].

Charakteristika interakcí antidepresiv s membránou

Interakce amfifilních molekul s biologickými
membránami vedou k více či méně specifické vazbě
těchto ligandů k membránovým proteinům nebo
k jejich adsorpci či inkorporaci do lipidové dvojvrst-
vy. Tyto interakce jsou charakterizovány disociač-
ními konstantami, vazebnými kapacitami, rych-
lostními konstantami asociace a disociace,
rozdělovacími koeficienty apod. Interpretace para-
metrů závisí na lokalizaci vazebných míst ligandů
v membráně. Jen výjimečně se dosud podařilo izo-
lovat vazebné proteiny pro léčiva, určit jejich pri-
mární a další struktury a zjistit konformační zmé-
ny způsobené léčivem vedoucí k funkčním změnám
a terapeutickým účinkům. Pro úplnou charakteris-
tiku těchto interakcí je nezbytné určit typy působí-
cích sil, jejich podíl na celkové vazbě, zjistit konfor-
mační změny interagujících molekul, provést
termodynamickou analýzu vazebných procesů.

Primární účinky interakcí léčivo-dvojvrstva
mohou vést ke změnám: 1. konformace molekul léči-
va; 2. konformace membránových molekul (např.
orientace polárních hlaviček fosfolipidů); 3. plochy
a tloušťky membrány; 4. membránového potenciálu;
5. dynamických vlastností lipidové dvojvrstvy.

Vazebné síly

Přitažlivé síly mezi molekulami amfifilního léči-
va a membránovými molekulami, které vedou
k více či méně silné vazbě ligandu, jsou v podstatě
elektrostatického charakteru a lze je rozdělit do 4
skupin (van der Waalovy síly, elektrostatické

interakce mezi ionty s určitým výsledným nábo-
jem, vodíková vazba, hydrofobní interakce), při-
čemž podíl jednotlivých interakcí na celkové vazbě
závisí na složení a struktuře vazebného místa
i ligandu. Rozlišení podílu jednotlivých sil
k výsledné vazbě je užitečné pro představu
o lokalizaci léčiva v lipidové dvojvrstvě a nezbytné
pro pochopení vlivu vnějších podmínek pro tuto
vazbu. Kromě stanovení vazebné afinity je proto
nutné věnovat pozornost i reakční kinetice, kvan-
tifikované rychlostními konstantami asociace
a disociace, termodynamickým parametrem vazby
apod. Termodynamická analýza vazebné rovnová-
hy pro takové ligandy vedla k závěru, že hnací
silou pro vazbu amfifilních léčiv do lipidové dvoj-
vrstvy je hlavně změna entalpie, tj. van der
Waalovy interakce [4].

Vazebné parametry

Interakce amfifilních léčiv s modelovými
i biologickými membránami se často charakterizu-
jí pomocí rozdělovacích koeficientů (k_p), určených
ze vztahu [21]:

$k_p = c_m \cdot V_v / (c_v \cdot V_m)$, kde c je koncentrace léčiva
vázaného v membráně (c_m) nebo volného ve vod-
ném prostředí (c_v), V – objem membrán (V_m)
a pufru (V_v). V_m je spočten za předpokladu, že husto-
ta fosfolipidů ve dvojvrstvách je 1 g cm^{-3} . Dříve
se pro léčiva používal rozdělovací koeficient stano-
vený pro izotropní prostředí, ale ukázalo se, že
těmito systémy nelze dobře simulovat membránu.
Při určování rozdělovacích koeficientů je důležité
odlišit molekuly slabě adsorbované na povrch
membrány, které lze odmýt [18].

Reaktivitu receptoru lze obtížně měřit *in vivo*,
hlavní farmakologickou charakteristikou recepto-
rových vazebných míst se tak stává jejich zdánlivá
disociační konstanta (K_d), vazebná kapacita
(B_{max}), rychlostní konstanty disociace a asociace
a hodnoty IC_{50} určené z vytěšňovacích studií.
Disociační konstanta je základní veličina pro cha-
rakterizaci vztahu struktura-funkce při interak-
cích agonistů a antagonistů se specifickým recep-
torem. Vazebná kapacita vyjadřuje hustotu
receptorových vazebných míst a je dána množ-
stvím maximálně navázaného ligandu vztaženého
na jednotkovou hmotnost membránových protei-
nů. Pro měření těchto parametrů se používají
obvykle radioligandy schopné se specificky
a s vysokou afinitou vázat na tato vazebná místa.
Pro parametry K_d a B_{max} zavedené pro receptoro-
vé studie platí vztah [5]:

$B = B_{max} \cdot F / (K_d + F)$, kde B je množství ligandu
navázaného k jednotkovému množství proteinu, F
je koncentrace volného ligandu. Pro charakteriza-
ci vazby antidepresiv k lipidové dvojvrstvě lze pou-
žít stejný vztah, kde B je množství antidepresiva
v molech vázané na mol membránového fosfolipi-
du a F je koncentrace antidepresiva ve vodné fázi
v těsné blízkosti povrchu membrány [18].

V rámci interakce léčivo-lipidová dvojvrstva má zdánlivá disociační konstanta a vazebná kapacita odlišný způsob interpretace. Vyšší afinita intramembránového místa může být způsobena jak vhodnější strukturou ligandu vzhledem k požadavkům vazebného místa, tak vyšší koncentrací a/nebo vhodnější konformací a orientací ligandů lokalizovaných v lipidové dvojvrstvě [44].

Rozdílná je pro vazbu k lipidovým dvojvrstvám také interpretace kinetiky asociace a disociace. Například rychlostní konstanty asociace TCA s lipidovými membránami závisí na koncentraci volného ligandu ve vodném prostředí, což je podobné receptorovým studiím. Oproti tomu rychlostní konstanty disociace jsou určeny spíše koncentrací ligandu v lipidové dvojvrstvě. Např. pro interakce TCA s lipidovou dvojvrstvou platí, že jejich vazba je chápána jako izotermický adsorpční, resp. vazebný proces, v němž se uplatňují především van der Waalsovy síly, Coulombovy interakce a interakce ion-indukovaný dipól mezi ligandy a membránovými molekulami [16].

Lokalizace v lipidové dvojvrstvě

Pro lokalizaci amfifilních molekul v membráně je důležitá polarita a náboj membrán. Statická dielektrická konstanta se na povrchu membrány mění z hodnoty 78 (voda) k hodnotě kolem 2 (vnitřek membrány) a celkový náboj biologických membrán je obvykle záporný [9]. Nositeli záporného náboje u membránových fosfolipidů jsou hlavně fosfátové a karboxylové skupiny, kladný náboj nesou aminoskupiny a cholinové hlavičky. Náboj je lokalizován pro fosfátovou a karboxylovou skupinu u atomů kyslíku, pro aminoskupinu u atomů vodíku a pro cholinovou hlavičku u atomů dusíku a vodíku.

Adsorpce nebo inkorporace amfifilních molekul do lipidové dvojvrstvy bývala chápána jako nespecifický proces. Nověji respektujeme heterogenitu fosfolipidové membrány, která je charakterizována polaritou, nábojem a orientací hlavičkových skupin, délkou a nenasyceností acylových řetězců a konformací jejich dvojných vazeb, asymetrií membrány, existencí nedvojvrstevných struktur, fluktuacemi hustoty aj., ale také přihlížíme k možnosti vzniku specifických interakcí některých ligandů s acylovými řetězci fosfolipidů. Tyto interakce mohou vést k ovlivnění počtu, velikosti a dynamiky heterogenních membránových struktur.

Pro bližší charakteristiku a lokalizaci amfifilních molekul v membráně byl studován vliv vnějšího prostředí (iontů, pH, teploty) a lipidového složení membrán [16, 18]. Jak rozdělení ligandů, tak vliv na některé vlastnosti membrán závisí silně na vlastnostech membránových lipidů, obzvláště na přítomnosti záporně nabitých fosfolipidů a cholesterolu [30]. I dosti podobné molekuly léčiv mohou interagovat s membránou odlišně.

Například fenothiaziny jsou lokalizovány spíše v hydrofóbním vnitřku dvojvrstvy, oproti TCA, která jsou více umístěna na rozhraní membrána/voda. Příčinou je nejspíše menší flexibilita aromatických kruhů TCA.

Interakce lipid-antidepressivum

Interakce lipid-antidepressivum má schopnost ovlivňovat interakce lipid-protein a tak měnit přístupnost receptorových vazebných míst nebo dostupnost fosfolipidů tvořících substráty pro fosfolipázy. Amfifilní molekuly léčiv nesoucí kladný náboj mohou způsobit fosfolipidózu, tj. akumulaci nadbytečných fosfolipidů uvnitř buňky, s čímž mohou souviset některé vedlejší nebo toxické účinky. Po vazbě do lipidové dvojvrstvy antidepressiva snadno ztrácejí kladný náboj a jako nepolární se potom akumulují v hydrofóbním vnitřku membrány, kde mohou snadno difundovat v rovině membrány a interagovat s případnými hydrofóbními vazebnými místy na integrálních proteinech. Mají i usnadněný průchod na vnitřní stranu membrány, kde opět získávají kladný náboj a dále mohou vstupovat do interakcí s proteiny nebo se záporně nabitými fosfolipidy (např. fosfatidylserinem nebo fosfatidylinositolem). Po těchto změnách mohou být uvolněny do nitra buňky, kde mohou přímo ovlivňovat procesy v cytosolu, organelách nebo buněčném jádře.

Vliv antidepressiv na složení a vlastnosti lipidových membrán

Vliv na složení a vlastnosti lipidové části buněčných membrán byl sledován hlavně pro fenothiaziny, butyrofenony a tricyklická antidepressiva. Protože fenothiaziny i TCA si jsou strukturálně podobné, ale stereochemicky jsou značně odlišné a mají i odlišné terapeutické účinky, byla srovnávána jejich lokalizace v buněčných membránách a vliv na fázové přechody lipidové dvojvrstvy. Ukázalo se, že fenothiaziny mají vyšší rozdělovací koeficienty než TCA, tj. mají vyšší hydrofobicitu a tedy silnější tendenci být inkorporovány dovnitř membrán. Pravděpodobná lokalizace molekul fenothiazinů v membráně je v hydrofóbním vnitřku membrány s orientací nepolární části podél uhlovodíkových řetězců. TCA jsou vázána více periferně, v povrchových vrstvách lipidové dvojvrstvy s nepolární částí orientovanou v rovině membrány. Při nižších koncentracích (3 μM) fenothiazinů i haloperidolu dochází k určité stabilizaci membrán ve smyslu snížení jejich fluidity a zvýšení parametrů pořádku. TCA vykazují menší vliv, resp. projevují se výrazněji až při koncentracích řádově vyšších. Teplotu fázového přechodu ovlivňují hlavně látky, které se vážou na povrch dvojvrstvy a které interagují elektrostaticky s polárními skupinami fosfolipidů. Vysoké koncentrace fenothiazinů (50-100 μM) vedou k destabilizaci membrán a rozpadu buněk. Dlouhodobě

podávání některých antidepresiv vede ke změnám ve složení membránových fosfolipidů [15].

ZÁVĚR

Působení antidepresiv v organismu bude ještě dlouho předmětem intenzivního zkoumání. Protože dosud nebyla uspokojivým způsobem prokázána přímá souvislost mezi receptorovými změnami a terapeutickými účinky antidepresiv, bude pozornost i nadále směřována ke studiu vlivu antidepresiv, resp. vlivu depresivní poruchy na další procesy podílející se na přenosu nervového signálu. Sledovány jsou další možné primární účinky antidepresiv a především dlouhodobé adaptivní procesy projevující se např. změnami výskytu a funkce G proteinů, fosfolipas, ATPas, adenylátcyklas, guanylátcyklas, proteinkinasy, enzymů podílejících se na syntéze a metabolismu neurotransmiterů a na jejich uvolňování z presynaptických zakončení. Zcela nové obzory nám přináší nové důkazy o genomických účincích antidepresiv. Klíčovou roli v nich hrají tzv. růstové faktory, přičemž doba nutná k vyvolání zvýšení jejich tvorby odpovídá době nástupu klinického účinku antidepresiv. Zásadní změna v současném neurobiologickém pojetí účinků antidepresiv tedy spočívá v tom, že se předpokládá jejich spojení jak s neurochemickými změnami, tak se zvýšením strukturální plasticity a buněčné odolnosti mozkových buněk.

Tato práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR/8805-4 a výzkumným záměrem MSM 0021620849.

LITERATURA

1. **Amara, S. G., Kuhar, M. J.:** Neurotransmitter transporters – recent progress. *Annu. Rev. Neurosci.*, 16, 1993, pp. 73-93.
2. **Axelsson, D.A., Perel, J.M., Birmaher, B., Rudolph, G., Nuss, S., Yurasits, L., Bridge, J., Brent, D.A.:** Platelet serotonin reuptake inhibition and response to SSRIs in depressed adolescents. *Amer. J. Psychiat.*, 162, 2005, pp. 802-804.
3. **Bakish, D., Cavazzoni, P., Chudzik, J., Ravindran, A., Hrdina, P. D.:** Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on platelet serotonin parameters in major depressive disorder. *Biol. Psychiat.*, 41, 1997, pp. 184-190.
4. **Bauerle, H.D., Seelig, J.:** Interaction of charged and uncharged calcium-channel antagonist with phospholipid-membranes – binding equilibrium, binding enthalpy, and membranes location. *Biochem. U.S.*, 30, 1991, pp. 7203-7211.
5. **Benett, J. P., Jr., Yamamura, H. I. In: Yamamura, H. I., Enna, S. J., Kuhar, M. J. (eds.):** Neurotransmitter receptor binding. 2nd ed., New York, Raven press, 1985, 61 p.
6. **Bhat, G. B., Block, E. R.:** Serotonin transport in reconstituted endothelial cell plasma membrane proteoliposomes: Effect of hypoxia. *Amer. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 6, 1992, pp. 633-638.
7. **Bianchi, M., Moser, C., Lazzarini, C., Vecchiato, E., Crespi, F.:** Forced swimming test and fluoxetine treatment: in vivo evidence that peripheral 5-HT in rat platelet-rich plasma mirrors cerebral extracellular 5-HT levels, whilst 5-HT in isolated platelets mirrors neuronal 5-HT changes. *Exp. Brain. Res.*, 143 (2), 2002, pp. 191-197.
8. **Bocchio-Chiavetto, L., Zanardini, R., Bortolomasi, M., Abate, M., Segala, M., Giacomuzzi, M., Riva, M. A., Marchina, E., Pasqualetti, P., Perez, J., Gennarelli, M.:** Electroconvulsive Therapy (ECT) increases serum Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in drug resistant depressed patients. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 16(8), 2006, pp. 620-624.
9. **Cevc, G.:** Membrane electrostatics. *Biochem. Biophys. Acta*, 1031 (3), 1990, pp. 311-382.
10. **Devlin, T. M.:** Textbook of biochemistry with clinical correlations. 4th Ed., New York-Chichester-Weinheim-Brisbane-Singapore-Toronto, Wiley-Liss, 1997, p. 1186.
11. **Duman, R. S., Heninger, G. R., Nestler, E. J.:** A molecular and cellular theory of depression. *Arch. Gen. Psychiat.*, 54, 1997, pp. 597-606.
12. **Duman, R. S.:** Synaptic plasticity and mood disorders. *Mol. Psychiat.*, 7 (Suppl. 1), 2002, pp. S29-S34.
13. **Fišar, Z., Jiráček, R.:** Vybrané kapitoly z biologické psychiatrie. Praha, Grada, 2001, s. 316.
14. **Fišar, Z., Anders, M., Kališová, L.:** Effect of pharmacologically selective antidepressants on serotonin uptake in rat Platelets. *Gen. Physiol. Biophys.*, 24 (1), 2005a, pp.113-128.
15. **Fišar, Z., Anders, M., Tvrzická, E., Staňková, B.:** Effect of long-term administration of antidepressants on the lipid composition of brain plasma membranes. *Gen. Physiol. Biophys.*, 24 (2), 2005b, pp. 221-236.
16. **Fišar, Z.:** Interactions between tricyclic antidepressants and phospholipid bilayer membranes. *Gen. Physiol. Biophys.*, 24 (2), 2005, pp. 161-180.
17. **Fišar, Z., Fuksová, K., Sikora, J., Kališová, L., Velenovská, M., Novotná, M.:** Distribution of tricyclic antidepressants between plasma and red blood cells. *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 27(3), 2006, pp. 307-313.
18. **Fišar, Z., Fuksová, K., Velenovská, M.:** Binding of imipramine to phospholipid bilayers using radioligand binding assay. *Gen. Physiol. Biophys.*, 23 (1), 2004, pp. 77-99.
19. **Fišar, Z., Kališová, L., Paclt, I., Anders, M., Vevera, J.:** Platelet serotonin uptake in drug-naïve depressive patients before and after treatment with citalopram. *Psychiat. Res.*, 2008 (in press).
20. **Fišar, Z., Krulík, R., Fuksová, K., Sikora, J.:** Imipramine distribution among red blood cells, plasma and brain tissue. *Gen. Physiol. Biophys.*, 15, 1996, pp. 51-64.
21. **Fišar, Z., Krulík, R.:** Buněčné membrány a jejich interakce s antidepresivy. *Biol. Listy*, 60(2), 1995, pp. 81-96.
22. **Floreani, M., Bonetti, A. C., Carpenedo, F.:** Increase of Na⁺/K⁺ ATPase activity in intact rat brain synaptosomes after their interaction with phosphatidylserine vesicles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101, 1981, pp. 1337-1344.
23. **Fredholm, B. B.:** Diversity in receptor signaling – cellular individuality and the search for selective drugs. *J. Intern. Med.*, 229 (5), 1991, pp. 391-406.
24. **Haase, J., Killian, A. M., Magnani, F., Williams, C.:** Regulation of the serotonin transporter by interacting proteins. *Biochem. Soc. Transactions*, 29, 2001, pp. 722-728.
25. **Healy, D., Leonard, B. E.:** Monoamine transport in depression: kinetics and dynamics. *J. Affect. Disor.*, 12, 1987, pp. 91-103.
26. **Hrdina, P. D., Bakish, D., Ravindran, A., Chudzik, J., Cavazzoni, P., Lapierre, Y. D.:** Platelet serotonergic indi-

- ces in major depression: up-regulation of 5-HT_{2A} receptors unchanged by antidepressant treatment. *Psychiat. Res.*, 66, 1997, pp. 73-85.
27. **Kaiser, R., Muller-Oerlinghausen, B., Filler, D., Tremblay, P. B., Berghöfer, A., Roots, I., Brockmüller, J.:** Correlation between serotonin uptake in human blood platelets with the 44-bp polymorphism and the 17-bp variable number of tandem repeat of the serotonin transporter. *Am. J. Med. Genet.*, 114 (3), 2002, pp. 323-328.
 28. **Koyama, T., Yamashita, I.:** Biological markers of depression: WHO multi-center studies and future perspective. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiat.*, 16, 1992, pp. 791-796.
 29. **Lingjærde, O.:** From clomipramine to mianserin: therapeutic relevance of interactions with serotonin uptake and storage, as studied in the blood platelet model. *Acta Psychiat. Scand.*, 320 (Suppl), 1985, pp. 10-19.
 30. **Luxnat, M., Galla, H. J.:** Partition of chlorpromazine into lipid bilayer-membranes – the effect of membrane structure and composition. *Biochim. Biophys. Acta*, 856 (2), 1986, pp. 274-282.
 31. **Mårtensson, B., Wagner, A., Beck, O., Brodin, K., Montero, D., Åsberg, M.:** Effects of clomipramine treatment on cerebrospinal fluid monoamine metabolites and platelet [³H]-imipramine binding and serotonin uptake and concentration in major depressive disorder. *Acta Psychiat. Scand.*, 83, 1991, pp. 125-133.
 32. **Møllerup, E., Langer, S. Z.:** Validity of imipramine platelet binding sites as a biological marker of endogenous depression. A World Health Organization Collaborative Study. *Pharmacopsychiat.*, 23, 1990, pp. 113-117.
 33. **Meltzer, H. Y., Arora, R. C., Baber, R., Tricou, B. J.:** Serotonin uptake in blood platelets of psychiatric patients. *Arch. Gen. Psychiat.*, 38, 1981, pp. 1322-1326.
 34. **Müller-Oerlinghausen, B., Roggenbach, J., Franke, L.:** Serotonergic platelet markers of suicidal behavior-do they really exist? *J. Affect. Disord.*, 79, 2004, pp. 13-24.
 35. **Neuger, J., Wistedt, B., Åberg-Wistedt, A., Stain-Malmgren, R.:** Effect of citalopram treatment on relationship between platelet serotonin functions and the Karolinska scales of personality in panic patients. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 22, 2002, pp. 400-405.
 36. **Owens, M. J., Nemeroff, C. B.:** Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin. Chemistry*, 40, 1994, pp. 288-295.
 37. **Páv, M., Kovářů, H., Fišerová, A., Havrdová, E., Lisá, V.:** Neurobiological aspects of depressive disorder and antidepressant treatment: role of glia. *Physiol. Res.*, 2007; [Epub ahead of print].
 38. **Plenge, P., Møllerup, E. T.:** An affinity-modulating site on neuronal monoamine transport proteins. *Pharmacol. Toxicol.*, 80, 1997, pp. 197-201.
 39. **Plenge, P., Wiborg, O.:** High- and low-affinity binding of S-citalopram to the human serotonin transporter mutated at 20 putatively important amino acid positions. *Neurosci. Lett.*, 383, 2005, pp. 203-208.
 40. **Racagni, G., Brunello, N.:** Transynaptic mechanism in the action of antidepressant drug. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12, 1984, pp. 527-531.
 41. **Rando, R. R.:** Regulation of protein kinase-C activity by lipids. *Faseb J.*, 2 (8), 1988, pp. 2348-2355.
 42. **Sánchez, C., Bogeso, K., Ebert, B., Heldbo Reines, E., Braestrup, C.:** Escitalopram versus citalopram: the surprising role of the R-enantiomer. *Psychopharmacol.*, 174(2), 2004, pp. 163-176.
 43. **Schloss, P., Williams, D. C.:** The serotonin transporter: A primary target for antidepressant drugs. *J. Psychopharmacol.*, 12 (2), 1998, pp. 115-121.
 44. **Schwyzler, R.:** New principle in QSAR – membrane requirements. *J. Recept. Res.*, 11 (1-4), 1991, pp. 45-57.
 45. **Stain-Malmgren, R., Khoury, A. E., Åberg-Wistedt, A., Tham, A.:** Serotonergic function in major depression and effect of sertraline and paroxetine treatment. *Intl. Clin. Psychopharmacol.*, 16, 2001, pp. 93-101.
 46. **Stockert, M., Buscaglia, V., Derobertis, E.:** In vivo action of phosphatidylserine, amitriptyline and stress on the binding of [³H]imipramine to membranes of the rat cerebral cortex. *Eur. J. Pharmacol.*, 160, 1989, 1, pp. 11-16.
 47. **Tuomisto, J., Tukiainen, E., Ahlfors, U. G.:** Decreased uptake of 5-hydroxytryptamine in blood platelets from patients with endogenous depression. *Psychopharmacol.*, 65, 1979, pp. 141-147.
 48. **Zarate, C. A. Jr., Singh, J., Manji, H. K.:** Cellular plasticity cascades: targets for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Biol. Psychiat.*, 59(11), 2006, pp. 1006-1020.

MUDr. Martin Anders, Ph.D.
Psychiatrická klinika 1. LF UK a VFN
Ke Karlovu 11
128 00 Praha 2
e-mail: anders.martin@vfn.cz