

EPILEPSIE, ÚZKOST A MOŽNÁ PAMĚŤOVÝ PROCES: TŘI VZÁJEMNĚ SOUVISEJÍCÍ FENOMÉNY

Georges Chapouthier, Patrice Venault

CNRS UMR 7593, „Vulnérabilité, Adaptation et Psychopathologie“ Hôpital Pitié-Salpêtrière, Université Paris VI, Francie

Farmakologické látky, jakými jsou na jedné straně agonisté benzodiazepinových receptorů, na druhé straně inverzní agonisté benzodiazepinových receptorů, mají, v závislosti na dávce, tři navzájem související účinky. Jednak jsou účinné při léčbě patologických stavů – epilepsie a úzkostných stavů, kde je jejich efekt připisován, alespoň částečně, ovlivnění komplexu GABA receptorů. Působí také ve fázi učení na paměťový proces, tedy na „normální“ mozkovou funkci. Tak epilepsie, anxieta a paměťový proces mohou představovat tři navzájem související fenomény.

Klíčová slova: anxieta, epilepsie, paněť, GABA.

Epilepsie je onemocnění charakterizované mimo jiné tonicko-klonickými záchvaty. Anxieta, kterou lze považovat za normální stav pokud je mírná, se může změnit v patologický stav, když dojde k vystupňování až k závažným psychiatrickým problémům. Paměťový proces představuje pravděpodobně jednu z „nejnormálnějších“ mozkových funkcí. I když vypadají rozdílně na první pohled, tyto tři fenomény mají velmi pravděpodobně společný fyziologický mechanismus (3, 4).

Je možné, že podstata tohoto vztahu spočívá v receptorovém GABA komplexu. Mezi mediátory centrálního nervového systému zaujímá GABA (gamma amino-máselná kyselina) jedno z nejdůležitějších míst. Zatímco většina mediátorů v centrálním nervovém systému (CNS) působí excitačně a tím zvyšují cirkulaci nervových impulzů podél nervových drah, GABA je hlavním inhibičním neurotransmiterem působícím na téměř jedné třetině mozkových synapsí. Bez dostatečné činnosti GABA, by byla organizovaná funkce mozku narušena, což se pravděpodobně stává během epileptických záchvatů. Proto farmakologické látky, které zvyšují akci GABA mají „sedativní“ účinky. Zabraňují epileptickým záchvatům. Také redukuje panické ataky nebo jiné potíže související s úzkostí. Pojdme se nejdříve detailněji zabývat možným farmakologickým vztahem mezi epilepsií a anxiétou.

Epilepsie a anxieta

GABA receptorový komplex je představován souborem několika jednotek (3), včetně vazebního místa pro GABA, které přímo působí na chloridový kanál, a několik dalších vazebních míst (pro benzodiazepiny, barbituráty), které modulují funkci receptoru pro GABA lokalitu. Působením GABA dojde k otevření chloridového kanálu, tím ke vstupu chloridových iontů do nervových buněk, což vede k hyperpolarizaci. Za podmínek hyperpolarizace buňka blokuje normální přenos nervových impulzů.

Látky, které zvyšují účinek GABA působením buď přímo na GABA místě (přímé gabamimetikum jako proga-bid) nebo nepřímo na modulujících lokalitách (benzodiazepiny, např. clonazepam, diazepam nebo barbiturát phenobarbital) by měly mít u epileptických pacientů protizáchvatový účinek. Skutečně několik látek, které zvyšují účinek GABA, jsou běžně používány ke zmírnění rizi-

ka záchvatů u epileptických pacientů. Stejně účinky vykazují i u zvířat. Tyto látky mají také silné anxiolytické účinky, to znamená, že mírní nebo potlačují patologické anxiózní potíže. To je dobře známo o benzodiazepinech, jako je chlórdiazepoxid (Librium) nebo lorazepam (Temestál), ale stejně působí další GABA agonisté, jakými jsou muscimol, THIP (4, 5, 6, 7 – tetrahydroisoxazolo[5,4-c]pyridin-3-ol) a isoguvacine. Na druhé straně, látky, které snižují účinky GABA buď přímo na GABA receptoru (pentylenetetrazol, picrotoxin působící na chloridový kanál), nebo nepřímo na modulujících místech, jako je DMCM (methyl-6,7-dimethoxy-4-ethyl-beta-carboline-3-carboxylate) neboli β -CCM, by měly vykazovat konvulzivní účinky. Jak bylo potvrzeno u lidí i u zvířat, tyto molekuly indukují epileptické záchvaty. V nižších dávkách navozují anxi-etu jak u lidí (6), tak u zvířat (10) (obrázek 1).

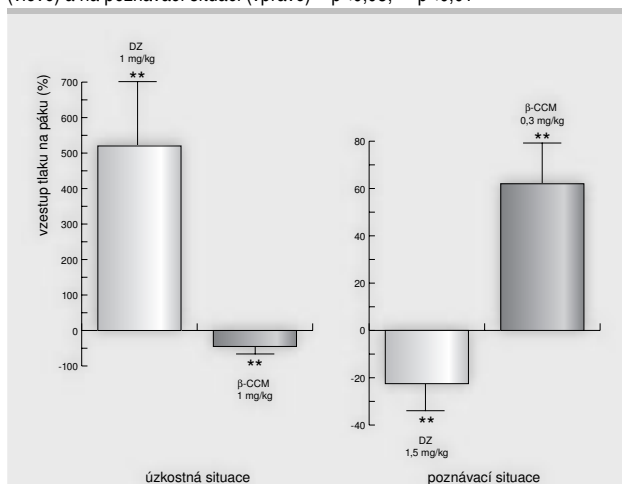
Vztah mezi schopností vyvolat záchvaty a anxiétou byl demonstrován i jinými metodami (5). Například je možné vyselektovat specifický druh myši podle jejich senzitivity, nebo naopak jejich rezistence k látce působící záchvaty (2). Pro tuto selekci byl použit methyl β -carboline-3-carboxylate neboli β -CCM, které byl podán intraperitoneálně v konvulzivní dávce 4 mg/kg. Krátce nyní popíšeme princip tohoto experimentu. Nejdříve byla získána heterogenní ale geneticky kontrolovaná zásoba zkřížením čtyř senzitivních a čtyř relativně rezistentních druhů myši. Z této skupiny byly vybrány dvě linie: jedna zahrnující páry zformované ze subjektů vykazující *nejkratší* latenci k záchvatům při aplikaci 4 mg/kg β -CCM (označená jako β -CCM senzitivní skupina neboli BS), druhá linie obsahující páry zformované ze subjektů, u kterých se nedal vyvolat vůbec záchvat po dobu 360 sekund (pojmenovaná β -CCM rezistentní skupina neboli BR). Taková selekce byla opakována v každé generaci. Během selekce se co možná nejvíce vyhýbalo inbreedingu (příbuzenskému křížení). Po několika generacích se tyto dvě linie významně lišily (90 % záchvatů bylo běžně pozorováno v BS linii a méně než 15 % záchvatů v BR linii, obrázek 2).

Bylo zajímavé, že tyto dvě linie se lišily také ve výskytu anxiety (14). Během testování v zařízení, které se klasicky používá v odhadování anxiety u hlodavců, zvířata v BR linii byly jasně úzkostnější než zvířata v BS linii. Například v diskriminačním testu světlo-tma, kde mají

myši možnost zůstat v tmavém nebo osvětleném oddělení, anxiózní zvířata mají tendenci zůstat v tmavém oddělení (obrázek 2). V tomto testu BR myši strávily méně času v osvětleném místě. V jiném testu, zvaném žebříkový, myši musejí lézt po schůdkách. Již dříve bylo dokumentováno, že zvířata, která dělají více zpětných pohybů, stojí vertikálně na svých zadních nohách bez rozdílu v počtu vyšplhaných schodů, jsou úzkostnější než ostatní (8). Tuto akci přesně vykazovaly BR myši. Z toho vyplývá, že můžeme konstatovat, že BR myši jsou úzkostnější než BS myši. Ke vztahu k záchvatovitým účinkům lze říci, že BS myši jsou senzitivnější ke konvulzivním účinkům β -CCM, zatímco BR myši vykazují tendenci k anxiogennímu chování.

Jak to ve vědě občas chodí, určitá pozorování přesně nekorelovala s těmito daty. Například přímá úloha GA-BA receptorů na rozdílu výskytu anxiety mezi BR a BS

Obrázek 1. Komparativní účinky benzodiazepinu (diazepam nebo DZ) a β -carboline (methyl β -carboline-3-carboxylát neboli β -CCM) na úzkostnou situaci (vlevo) a na poznávací situaci (vpravo) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$



Zde použitá **úzkostná situace** se nazývá konfliktní situací. Myš musí zatlačit na páku, aby dostala potravu jako odměnu. Během pokusu každé zmáčknutí páky znamená, že kromě potravinové pelety myš dostane i lehký elektrický šok. Výsledky jsou vyjádřeny jako vzestup procent zmáčknutí páky v porovnání s procenty mačkání páky téhož zvířete během předchozího dne (bez farmakologické léčby). Jak je patrné, DZ zvyšuje procenta zmáčknutí páky v porovnání s předchozím dnem, naopak β -CCM je snižuje. Působení DZ je proto interpretováno jako anxiolytické, kdežto protikladný účinek β -CCM lze hodnotit jako anxiogenní. Modifikováno podle (10).

Během **poznávací situace** se zkoumá přizpůsobení se novému prostředí. Když se hladové myši umístí poprvé do nového prostředí (první pokus), nejedí a čas tráví zkoumáním a poznáváním tohoto nového prostředí. Když jsou o několik dní později podruhé umístěny do toho samého prostředí (druhý pokus), začnou jíst, protože místo již poznávají. Přesná hmotnost požitého jídla během druhého pozorování může být dokonce využita jako kvantitativní měření kvality učení během prvního pokusu. Pokud dojde k podání farmaka před prvním pokusem, dojde k ovlivnění výsledků během druhého pokusu, i když farmakologická látka nebyla před ním podána. Podání β -CCM před prvním pokusem zvyšuje příjem potravy, zatímco aplikace DZ tento příjem snižuje. Z toho lze vyvodit, že β -CCM zlepšuje u myši proces obeznámení se s charakteristikami nového prostředí během prvního pokusu. Naopak léčba DZ proces učení zhoršila (modifikováno podle 15).

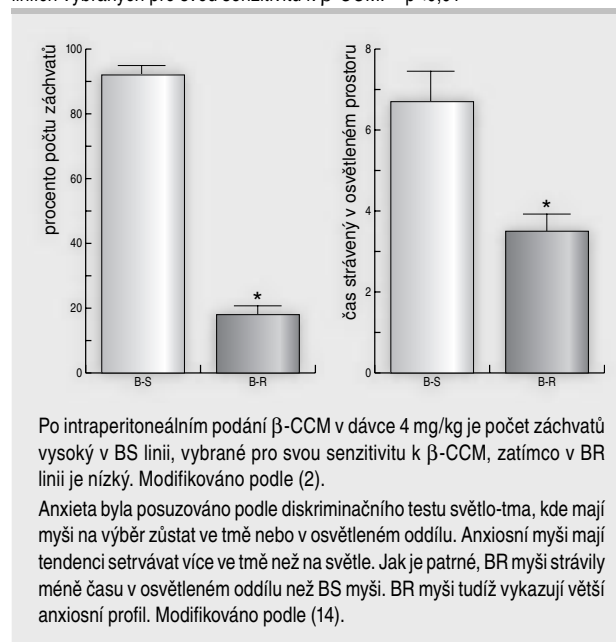
liniemi nemohla být jasně prokázána (4). Na druhé straně Rinaldi a kol. (12) nenašli genetickou korelaci mezi mechanismem, který reguluje záchvaty indukované β -CCM u několika myších druhů, a měřenou anxiétou u těch samých druhů během jiného vyšetření – bludiště (elevated plus maze), opět odhadujícího anxiétu hlodavců. Proto je velmi pravděpodobné, že ne všechny typy anxiety mají přímý vztah k záchvatům. Tyto diskrepance, které budou muset být objasněny dalším výzkumem, ale nenaří všeobecné zjištění, že v mnoha případech můžeme najít silný vztah mezi epilepsií a anxiétou hlavně při užití farmakologických látek.

Následky pro paměťový proces

Zaměříme se nyní na otázky paměťového procesu.

Je všeobecně známo, že sloučeniny, jakými jsou benzodiazepiny, užívané pro jejich antiepileptické a anxiolytické účinky, vykazují negativní dopad na paměťový proces. To se klasicky označuje jako „amnestický účinek benzodiazepinů“. Tyto „negativní“ účinky mohou mít ale „pozitivní“ následky: benzodiazepiny se často podávají předoperačně nejen pro jejich zřejmý anxiolytický efekt, ale protože také navozují u pacienta proces zapomenutí nepříjemných chvil, které předcházely. Látky, které mají opačný účinek, například β -CCM, jsou ve vysokých dávkách konvulzivní a při menších dávkách anxiogenní, vykazují v této logice i opačný efekt v paměťovém procesu. Nízké dávky β -CCM podané intraperitoneálně jsou schopny zlepšit proces učení v několika paměťových úkolech u myši a kuřat. (7, 11, 15) (obrázek 1). Intracerebrální podání malých dávek β -CCM přímo do nucleus basalis magnocellularis, známého svou rolí u lidí trpících Alzheimerovou nemocí, také posílilo paměťový proces v rozpoznávacím úkolu u potkanů (9). Je jasné, že k posílení proce-

Obrázek 2. Senzitivita k záchvatům (vlevo) a anxiétě (vpravo) ve dvou myších liniích vybraných pro svou senzitivitu k β -CCM. * $p < 0,01$



Po intraperitoneálním podání β -CCM v dávce 4 mg/kg je počet záchvatů vysoký v BS linii, vybrané pro svou senzitivitu k β -CCM, zatímco v BR linii je nízký. Modifikováno podle (2).

Anxieta byla posuzována podle diskriminačního testu světlo-tma, kde mají myši na výběr zůstat ve tmě nebo v osvětleném oddílu. Anxiózní myši mají tendenci setrvat více ve tmě než na světle. Jak je patrné, BR myši strávily méně času v osvětleném oddílu než BS myši. BR myši tudíž vykazují větší anxiózní profil. Modifikováno podle (14).

su učení musí být podané dávky β -CCM nízké, mnohem nižší než dávky anxiogenní nebo konvulzivní (viz obrázky). Naopak se předpokládá, že vyšší dávky mohou zhoršit proces učení (15). Je známo, že opakované subkonvulzivní podání konvulzivní látky, to znamená poměrně vysokých dávek – fenomén zvaný „chemický kindling“, skutečně vedlo k alteraci procesu učení u krys (13).

Působení jak benzodiazepinů, tak β -CCM je specificky vázáno na fázi získávání informací (neboli učení) paměťového procesu: benzodiazepiny a podobné látky zhoršují proces učení, zatímco β -CCM a jemu podobné látky ho zlepšují. Účinky na jiné fáze paměťového procesu nebyly pozorovány, například na fázi udržení, která je více spojována s tím, co chápeme jako „paměť“. Proto termín „amnestický“, který se v klinické praxi používá k popisu účinku benzodiazepinů, je trochu zavádějící. Označení jako „poškození akvizice“, tj. získávání informací by bylo vhodnější. I termín „poškození konsolidace“, tj. upevnění, se nám zdá příliš široký, protože akvizice představuje pouze první krok v konsolidaci paměti.

Literatura

1. Chapouthier G. L'homme, ce singe en mosaïque. Paris: Odile Jacob 2001.
2. Chapouthier G, Launay JM, Venault P, Breton C, Roubertoux PL, Crusio WE. Genetic selection of mouse lines differing in sensitivity to a benzodiazepine receptor inverse agonist. *Brain Res* 1998; 787, 85–90.
3. Chapouthier G, Martin B. β -carbolines: from memory towards genetics. *Eur. Bull. Cognit. Psychol* 1992; 12, 423–458.
4. Chapouthier G, Venault P. A pharmacological link between epilepsy and anxiety? *Trends in Pharmacological Sciences* 2001; 22: 491–493.
5. Clément Y, Chapouthier G. Biological bases of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 22: 623–633.
6. Dorow R, Horowski R, Paschelke G, Amin M, Braestrup C. Severe anxiety induced by FG 7142, a β -carboline ligand for benzodiazepine receptors. *Lancet* 1983; 98–99.
7. Krazem A, Borde N, Beracochea D. Effects of diazepam and β -CCM on working memory in mice: relationship with emotional reactivity. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 68: 235–244.
8. Lepicard E, Joubert C, Hagneau I, Perez-Diaz F, Chapouthier G. Differences in anxiety-related behavior and response to diazepam in BALB/cByJ and C57BL/6J strains of mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67: 739–748.
9. Mayo W, Dellu F, Cherkaoui J, Chapouthier G, Dodd RH, Le Moal M, Simon H. Cognitive enhancing properties of β -CCM infused into the nucleus basalis magnocellularis of the rat? *Brain Res* 1992: 109–114.

Spojení mezi třemi fenomény

Jestliže shrneme všechna prezentovaná data, můžeme usuzovat, že ty samé sloučeniny, benzodiazepiny a jim podobné molekuly na jedné straně a β -CCM a podobné látky na straně druhé, vykazují tři vzájemně související účinky v závislosti na dávce. V patofyziologii působí jak u epilepsie, tak u úzkostných stavů, což může být alespoň částečně v souvislosti s působením na GABA receptorový komplex. Současně se účastní fáze učení paměťového procesu, v jasně „normální“ mozkové funkci.

V širším slova smyslu zde opět můžeme najít příklad, jak funguje darwinistická evoluce, tím, že systematicky *znovu využívá* ty samé struktury nebo stejné fyziologické mechanismy pro zcela různé účely. Toto může být lehce dokladováno na anatomii zvířat (1), ale několik důkazů lze najít i ve fungování mozku. Tím, že tělo využívá podobných fyziologických mechanismů k regulaci učení, anxiety a dokonce sklonu k epilepsii, přináší další zjevný příklad toho, že „evoluční inženýrství“ bylo schopné vytvořit tak komplexní procesní systémy, jako jsou naše mozky!

10. Prado de Carvalho L, Grecksch G, Chapouthier G, Rossier J. Anxiogenic and non-anxiogenic benzodiazepine antagonists. *Nature* 1983; 301, 64–66.
11. Raffalli-Sébille MJ, Chapouthier G, Venault P, Dodd RH. Methyl β -carboline-3-carboxylate enhances performance in a multiple-trial learning task in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 35: 281–284.
12. Rinaldi D, Larrigaldie V, Chapouthier G, Martin B. Unexpected absence of correlation between the genetic mechanisms regulating β -carboline-induced seizures and anxiety manifested in an elevated plus-maze test. *Behav. Brain Res* 2001; 125: 159–165.
13. Rössler AS, Schröder H, Dodd RH, Chapouthier G, Grecksch G. Benzodiazepine receptor inverse agonist-induced kindling of rats alters learning and glutamate binding. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67: 169–175.
14. Suaudeau C, Rinaldi D, Lepicard E, Venault P, Crusio WE, Costentin J, Chapouthier G. Divergent levels of anxiety in mice selected for differences in sensitivity to a convulsant agent. *Physiol Behav* 2000; 71: 517–523.
15. Venault P, Chapouthier G, Prado de Carvalho L, Simiand J, Morre M, Dodd RH, Rossier J. Benzodiazepine impairs and β -carboline enhances performance in learning and memory tasks. *Nature* 1986; 321, 864–866.